

Aus dem Pathologischen Institut  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. Thomas Kirchner

Histomorphologische und immunhistochemische Untersuchungen  
an Adnexektomiepräparaten von BRCA1- oder BRCA2- Mutationsträgerinnen  
im Hinblick auf Läsionen des Tubenepithels und ihre Vorläuferrolle in der  
ovariellen Kanzerogenese

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnmedizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Michael Schleißheimer

aus  
Eichstätt

2018

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatterin: Fr. Prof. Dr. Doris Mayr

Mitberichterstatter: Fr. Prof. Dr. Nadia Harbeck  
Hr. Prof. Dr. Bruno Märkl

Mitbetreuung durch die  
promovierte Mitarbeiterin: Fr. Dr. Elisa Schmoeckel

Dekan: Hr. Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 15.05.2018

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung .....	1
1.1. Das Ovarialkarzinom.....	1
1.1.1. Epidemiologie.....	1
1.1.2. Klassifikation.....	2
1.1.3. Beeinflussbare Risikofaktoren .....	2
1.1.3.1. Orale Kontrazeptiva.....	2
1.1.3.2. Sterilisation .....	3
1.1.3.3. Parität und Laktation .....	3
1.1.3.4. Adipositas.....	3
1.1.3.5. Hormontherapie in der Peri- und Postmenopause .....	3
1.1.3.6. Menarche- und Menopausenalter .....	4
1.1.4. Genetische Prädisposition .....	4
1.1.4.1. Das Lynch-Syndrom.....	4
1.1.4.2. Das familiäre Brust- und Eierstockkrebssyndrom.....	5
1.2. Tubare Vorläuferläsionen .....	8
1.2.1. Histologischer Aufbau der Tuba uterina.....	8
1.2.2. Die p53-Signatur .....	9
1.2.3. Secretory Cell Outgrowth .....	10
1.2.4. Das seröse intraepitheliale Karzinom .....	11
1.3. Kanzerogenese epithelialer Ovarialkarzinome .....	12
1.3.1. Ein dualistisches Modell .....	12
1.4. Fragestellung.....	16
2. Material und Methoden .....	17
2.1. Kollektiv .....	17
2.2. Geräte.....	19
2.3. Materialien .....	19
2.4. Chemikalien.....	20
2.4. Färbungen.....	21
2.5. Gewebe-Asservierung .....	27
2.6. Auswertung.....	27
3. Ergebnisse.....	29
3.1. Intraepitheliale tubare Läsionen bei BRCA1/2-Mutationsträgerinnen .....	29
3.2. Intraepitheliale tubare Läsionen im Kontrollkollektiv .....	33
3.3. Ergebnisse beider Kollektive im Vergleich.....	33
3.4. Beobachtungen am Serosa-Übergang.....	35

3.5.	Bilddokumentation .....	36
3.5.1.	SCOUT .....	36
3.5.2.	p53-Signatur .....	37
3.5.3.	STIC .....	38
3.5.4.	Serosaübergang .....	39
4.	Diskussion.....	41
4.1.	Der tubare Ursprung des high grade serösen Ovarialkarzinoms .....	41
4.1.1.	Das seröse intraepitheliale Tubenkarzinom .....	41
4.1.1.1.	Vorläuferläsion eines high grade serösen Ovarialkarzinoms .....	41
4.1.1.2.	Verwandtschaft zur anderen tubaren Epithelveränderungen .....	42
4.1.2.	Die p53-Signatur .....	45
4.1.2.1.	Eine indirekte Vorläuferläsion.....	45
4.1.2.2.	Läsion und Mutationsvariante .....	46
4.1.3.	Secretory Cell Outgrowth .....	50
4.1.3.1.	Eine zweifelhafte Rolle in der ovariellen Kanzerogenese .....	50
4.2.	Das dualistische Modell .....	52
5.	Zusammenfassung .....	57
6.	Literaturverzeichnis .....	61
7.	Danksagung .....	65
8.	Lebenslauf und Publikation .....	66

## Abkürzungen

Abb.	Abbildung
BMI	Body Mass Index
BRCA1	Breast Cancer Associated Gene 1
BRCA2	Breast Cancer Associated Gene 2
CSC	Cancer Stem Cells
Fa.	Firma
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
HBOC	Hereditary Breast Ovarian Cancer Syndrome
HE	Hämatoxylin-Eosin
HNPCC	Hereditary non-Polyposis Colorectal Carcinoma Syndrome (Lynch-Syndrom)
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinase
MIB1	Molecular Immunology Borstel 1
PTT	Protein-Truncation-Test
SCOUT	Secretory Cell Outgrowth
STIC	Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma
TPJ	Tubal Peritoneal Junction
WHO	World Health Organisation

## **1. Einleitung**

### **1.1. Das Ovarialkarzinom**

#### **1.1.1. Epidemiologie**

Im Jahr 2010 waren 5,6% aller Tumorerkrankungen deutscher Frauen mit letalem Ausgang im Ovar lokalisiert. Somit war das Ovarialkarzinom für Frauen die fünfthäufigste Ursache einer tödlichen verlaufenden Krebserkrankung nach dem Brust-, Lungen-, Darm- und Bauchspeicheldrüsenkrebs. Im selben Jahr fielen 3,5% aller bösartigen Krebsneuerkrankungen auf das Ovarialkarzinom. Das entspricht 7790 Fällen in Deutschland. Bei einem errechneten Lebenszeitrisko von 1,5% erkrankt eine von 68 Frauen während ihres Lebens an einem Ovarialkarzinom. Das mittlere Erkrankungsalter lag 2010 bei 69 Jahren (S. Caspritz, 2009/2010). Zur Gruppe der Ovarialmalignome zählen das epitheliale Ovarialkarzinom, das mit 90% den Hauptanteil stellt, sowie die selteneren Keimzell- und Keimstrangtumoren (D. Rein, 2006), die im Gegensatz zum erstgenannten Typus bereits in jungen Jahren auftreten (S. Caspritz, 2009/2010). Von der zunächst unspezifischen Symptomatik (M. Klar, 2009) und der daraus resultierenden Diagnosestellung in einem meist späten Krankheitsstadium leitet sich eine eher schlechte Prognose ab: die relative Fünf-Jahres-Überlebensrate beträgt derzeit 42% (S. Caspritz, 2009/2010). Bisherige Versuche durch breitgefächerte Screening-Verfahren eine Früherkennung des Ovarialkarzinoms zu ermöglichen blieben erfolglos und haben keinen Einfluss auf die Mortalitätsraten gezeigt (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft & AWMF), 2013). Dass die pathogenetischen Mechanismen der ovariellen Kanzerogenese bis heute nicht befriedigend entschlüsselt werden konnten trägt dazu bei (D. Rein, 2006).

Ein weiterer beachtenswerter Aspekt besteht im Auftreten geographischer Diskrepanzen bei Inzidenz- und Mortalitätszahlen. In den sogenannten neuen Bundesländern lassen sich niedrigere Werte verbuchen als in den alten Bundesländern. Im internationalen Vergleich weist Großbritannien die höchste Anzahl von Neuerkrankungen auf, Frankreich hingegen die niedrigste (S. Caspritz, 2009/2010).

Um neue Screening-Verfahren etablieren und letztlich Einfluss sowohl auf die schlechte Prognose für Patientinnen mit einer ovariellen Tumorerkrankung als auch auf die als heterogen zu bezeichnende Versorgungslandschaft auf dem Gebiet der gynäkologischen Onkologie in Deutschland (Du Bois, Rochon, Lamparter, & Pfisterer,

2005) ausüben zu können, werden bisherige Theorien der ovariellen Kanzerogenese auf den Prüfstand gestellt.

### 1.1.2. Klassifikation

Die Tumorklassifikation der Weltgesundheitsorganisation (WHO) für den weiblichen Genitaltrakt wurde zuletzt im Jahr 2014 überarbeitet und differenziert am Ovar zwischen epithelialen, mesenchymalen, gemischt epithelial-mesenchymalen Tumoren, Keimstrang-Stroma-Tumoren und gemischten Keimstrang-Stroma-Tumoren. Die epithelialen Tumoren werden in benigne, maligne Typen und Borderline-Varianten unterteilt (T. Longacre, 2014). Die vorliegende Arbeit wird sich nur mit epithelialen Tumoren beschäftigen.

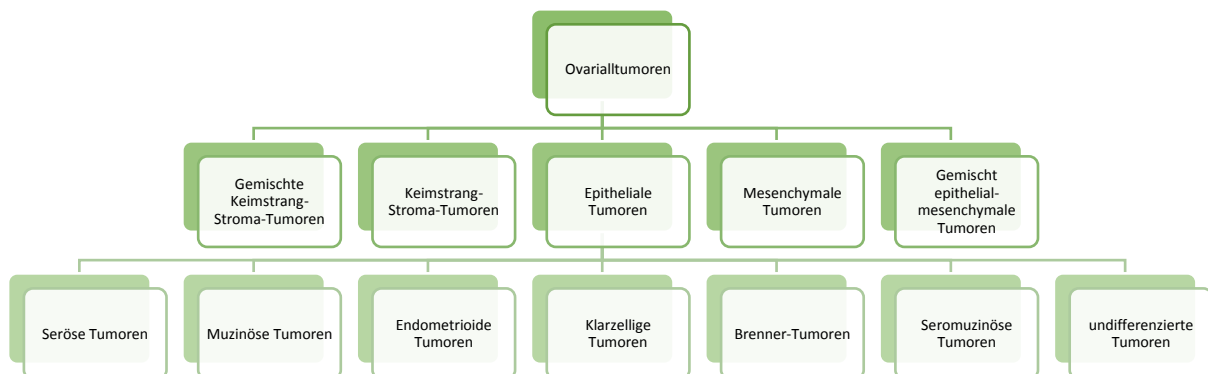


Abbildung 1: Ovarialtumoren nach der WHO-Klassifikation von 2014.

### 1.1.3. Beeinflussbare Risikofaktoren

#### 1.1.3.1. Orale Kontrazeptiva

Die Einnahme oraler Kontrazeptiva senkt das Risiko an einem Ovarialkarzinom zu erkranken erheblich (S. Caspritz, 2009/2010). Hat eine Frau jemals orale Kontrazeptiva eingenommen, so reduziert sich das Risiko um 40 Prozent über einen Zeitraum von zehn Jahren. Bei der Einnahme über einen Zeitraum von 15 Jahren und länger bleibt

eine Reduktion des Risikos für 30 Jahre erhalten. Diese Beobachtungen beziehen sich auf jeden Ovarialkarzinomtypus ausgenommen muzinöse Tumoren. Ob die eingenommene Substanz oder die Dosis auf die Entstehung eines Ovarialkarzinoms einwirken, ist noch nicht bekannt (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft & AWMF), 2013).

#### *1.1.3.2. Sterilisation*

Durch eine Tubenligatur wird das Erkrankungsrisiko ebenfalls gesenkt. Es gilt für alle Ovarialtumortypen außer den muzinösen Tumoren und ist um 34 Prozent über einen Zeitraum von 14 Jahren gemindert (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft & AWMF), 2013)

#### *1.1.3.3. Parität und Laktation*

Eine hohe Geburtenanzahl und lang andauernde Stillzeiten haben einen mindernden Einfluss auf das Erkrankungsrisiko bei Ovarialkarzinomen (S. Caspritz, 2009/2010). Im Gegensatz dazu ist Infertilität mit einem erhöhten Risiko verbunden. Die Gabe von Sexualhormonen und ovulationsanregenden Arzneimitteln zeigt in diesem Zusammenhang keine Minderung der Erkrankungswahrscheinlichkeit (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft & AWMF), 2013).

#### *1.1.3.4. Adipositas*

Ein erhöhter BMI (Body Mass Index) im Erwachsenenalter erhöht das Risiko an einem Ovarialkarzinom zu erkranken.

#### *1.1.3.5. Hormontherapie in der Peri- und Postmenopause*

Die Anwendung einer Hormontherapie (Östrogen- und Östrogen-Gestagentherapie) ist mit einem gesteigertem Ovarialkarzinomrisiko verbunden (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft & AWMF), 2013).



#### 1.1.3.6. *Menarche- und Menopausenalter*

Der Zeitpunkt der ersten Regelblutung und das Alter bei Einsetzen des Klimakteriums haben keinen Einfluss auf eine ovarielle Tumorerkrankung.

#### 1.1.4. Genetische Prädisposition

##### 1.1.4.1. *Das Lynch-Syndrom*

Als besonders hohes Risiko einer ovariellen Tumorerkrankung wird die familiäre genetische Prädisposition angesehen. Das Lynch-Syndrom (auch HNPCC, hereditary non-polyposis colorectal carcinoma syndrome) stellt die häufigste erbliche Kolorektal- und Endometriumkarzinomkrankung dar und birgt darüber hinaus ein erhöhtes Tumorrisiko für weitere Organe (Schneider, Schneider, Kloor, Fürst, & Möslin, 2012). Vermehrt werden Ovarialkarzinome, Magen- und Dünndarmkarzinome, Urothelkarzinome des Nierenbeckens und des Harnleiters diagnostiziert. Auch die Anzahl von biliären Tumoren, Pankreaskarzinomen und Hirntumoren ist gegenüber der Normalbevölkerung erhöht.

Das Risiko eines Anlageträgers einen mit dem Lynch-Syndrom verbundenen Tumor zu entwickeln besteht bei 80 bis 90 Prozent. Das kolorektale Karzinom ohne Polyposis stellt mit einem kumulativen Lebenszeitrisiko von 60 bis 70 Prozent und einem mittleren Erkrankungsalter von 44 Jahren den Hauptanteil tumoröser Erkrankungen dar. An zweithäufigster Stelle steht das Endometriumkarzinom mit einer Wahrscheinlichkeit von 40 bis 60 Prozent. Ein Ovarialkarzinom konnte bei 10 bis 15 Prozent aller Anlageträgerinnen beobachtet werden (C. Pox, 2014).

Verantwortlich für das Syndrom ist ein Defekt in einem der Mismatch-Reparatur-Gene (Schulmann & Stemmler, 2008). Keimbahnmutationen der Gene hMSH2 und hMLH1 sind in der Mehrzahl der vom Syndrom Betroffenen nachweisbar, Mutationen der Gene hPMS1 und hPMS2 sind seltener zu beobachten (N. Papadopoulos, 1997). Das Lynch-Syndrom wird autosomal-dominant vererbt und besitzt eine hohe Penetranz von 80 Prozent (Schulmann & Stemmler, 2008).

Das HNPCC-Syndrom besitzt ein klinisch unauffälliges phänotypisches Erscheinungsbild. Anamnestiche Faktoren wurden deshalb in den Amsterdam-1- und Amsterdam-2-Kriterien zusammengefasst, um den Verdacht auf ein Vorliegen einer hereditären Belastung zu verifizieren. Werden die Amsterdam-1-Kriterien erfüllt, liegt eine Ver-

dachtsdiagnose vor. Die Amsterdam-2-Kriterien beziehen extrakolisch lokalisierte Anzeichen und Tumorerkrankungen in die Diagnose mit ein. Erscheint eine Familienanamnese auf Grund einer zu kleinen Verwandtschaft oder im Einzelfall nicht sinnvoll, können die modifizierten Bethesda-Kriterien zur Diagnosestellung herangezogen werden. Diese sind weniger spezifisch als die Amsterdam-Kriterien.

#### *1.1.4.2. Das familiäre Brust- und Eierstockkrebssyndrom*

Eine für die Gynäkologie im Kontext des Ovarialkarzinoms wichtige Erkrankung ist das familiäre Brust- und Eierstockkrebssyndrom (HBOC, hereditary breast ovarian cancer syndrome), welches auf einer Mutation entweder des BRCA1- oder BRCA2-Gens (breast cancer associated gene) basiert.

Trägerinnen einer BRCA1-Mutation besitzen bis zum 69. Lebensjahr ein kumulatives Risiko von 46 bis 65 Prozent für ein Mamma- und 39 Prozent für ein Ovarialkarzinom. Mutationsträgerinnen des BRCA2-Gens erkranken bei einem späteren mittleren Erkrankungsalter mit einem Risiko von 45 Prozent an einem Mammakarzinom und einem niedrigeren Risiko von 11 bis 22 Prozent an ein Ovarialkarzinom (A. du Bois, 2013). Neben dem Mamma- und Ovarialkarzinom werden auch das Prostatakarzinom, Kolonkarzinom, Pankreaskarzinom und das hepatozelluläre Karzinom in geringem Maß häufiger bei BRCA1/2-Mutationsträgern diagnostiziert (B. Prieshof, 2006).

Beide Gene sind für Zellreifung und Zelldifferenzierung, Reparatur von DNA-Schäden und Tumorsuppression verantwortlich (B. Prieshof, 2006). Das BRCA1-Gen steht in Wechselwirkung mit mehreren Proteinen, die zur DNA-Reparatur durch Rekombination beitragen und sorgt damit für den Zusammenhalt des Genoms. In diesem Zusammenhang nimmt das BRCA1-Gen auch auf Zellzyklusregulation, Ubiquitylierung und Chromatinremodelling Einfluss. Die Hauptaufgabe des BRCA2-Gens besteht ebenfalls in der Beseitigung von DNA-Schäden. Die Interaktion mit dem Protein RAD51 ermöglicht den Beginn der homologen Rekombination nach Doppelstrangbrüchen (Schlehe & Schmutzler, 2008). Liegt eine Mutation des BRCA1- oder BRCA2-Gens vor, kommt es bei der Proteinbiosynthese zum frühzeitigen Kettenabbruch und zur Synthese nicht funktionierender Reparaturproteine. Folglich besitzen Zellen eines Mutationsträgers ein höheres Potential maligner Entartung. Das BRCA1-Gen ist auf dem langen Arm von Chromosom 17, das BRCA2-Gen auf dem langen Arm von Chromosom 13 lokalisiert. Die Mutation wird autosomal-dominant weitergegeben und ihre Träger sind meist

heterozygot (B. Prieshof, 2006). Über 2000 verschiedene pathogene Varianten der BRCA1- und mehr als 1000 Varianten der BRCA2-Genmutation sind inzwischen weltweit bestimmt worden. Außerdem werden in den BRCA1- und BRCA2-Genen eine Vielzahl von einzelnen Aminosäureaustauschen und vermeintlichen Spleißvorgängen ungeklärter Pathogenese unter den unklassifizierten Varianten (UV) der Mutation zusammengefasst (Schlehe & Schmutzler, 2008). Weil Spontanmutationen kaum auftreten, kann eine Mutationsvariante häufig einer Familie zugeordnet werden, innerhalb derer die Mutation vererbt wird. Mit 71 Prozent bildet die Frameshift-Mutation die häufigste Mutationsart. Dabei tritt die Deletion oder die Insertion von Basenpaaren auf. Zehn Prozent der Mutationen werden durch Nonsense-Mutationen verursacht (B. Prieshof, 2006). Spontane chromosomale Umbauprozesse im Erwachsenenalter können die Inaktivierung des intakten, zweiten (Wildtyp-)Allels in einer Zelle und somit den Beginn der Tumorentstehung in einem bestimmten Organ zur Folge haben. Die Zufälligkeit des initialen Mechanismus führt zu einer unvollständigen Penetranz der Erkrankung (Schlehe & Schmutzler, 2008).

Als Standardnachweis der BRCA1/2-Mutation hat sich der Protein-Truncation-Test (PTT) plus Sequenzierung bewährt. Beide Tests haben in Kombination eine diagnostische Sicherheit von 90 bis 95 Prozent (B. Prieshof, 2006). Ein Verdacht auf das Vorliegen einer BRCA1- oder BRCA2-Genmutation und somit die Kriterien für die Durchführung einer Genanalyse sind gegeben, wenn eine der folgenden Konstellationen vorliegt:

Familien (entweder mütterlicher oder väterlicherseits) mit Erkrankungen von mindestens:

- Drei Frauen an Mammakarzinom (unabhängig vom Alter).
- Zwei Frauen an Mammakarzinom, davon eine Erkrankung vor dem 51. Lebensjahr.
- Einer Frau an Mammakarzinom und eine Frau an Ovarialkarzinom (unabhängig vom Alter).
- Zwei Frauen an Ovarialkarzinom (unabhängig vom Alter).
- Einer Frau an Mamma- und Ovarialkarzinom (unabhängig vom Alter).
- Einer Frau an Mammakarzinom, mit 35 Jahren oder jünger.
- Einer Frau an bilateralem Mammakarzinom, mit 50 Jahren oder jünger.

- Einem Mann an Mammakarzinom und einer Frau an Mamma- oder Ovarialkarzinom (unabhängig vom Alter).

(Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft & AWMF), 2013)

Als therapeutisches Mittel der Wahl ist bei der Diagnose einer BRCA1- oder BRCA2-Mutation die bilaterale Salpingo-Oophorektomie (BSO), Synonym für Adnexektomie, indiziert (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft & AWMF), 2013). Sie reduziert das Risiko eines Ovarialkarzinoms lebenslang um 90 Prozent. Wird der Eingriff vor dem Eintreten der Menopause durchgeführt, verringert sich zusätzlich das Risiko eines Mammakarzinoms um 50 Prozent (Kast et al., 2006). Ein prophylaktischer Eingriff sollte bei Trägerinnen der BRCA1-Mutation zwischen dem 35. und 40. Lebensjahr und bei BRCA2-Mutationsträgerinnen im Alter zwischen 40 und 45 Jahren vorgenommen werden. Die Familienplanung der Patientin und die Familienanamnese (jüngstes Diagnosealter einer Angehörigen) müssen Einfluss auf die Wahl des Zeitpunkts der Salpingo-Oophorektomie haben. Bei Frauen in der Prämenopause folgen dem Eingriff rasch klimakterische Beschwerden sowie ein erhöhtes Herzinfarkt- und Osteoporoserisiko. Eine Hormontherapie hat hierauf präventive Auswirkungen und lindert Beschwerden auf Grund der mit der Adnexektomie einhergehenden hormonellen Umstellung. Ein negativer Einfluss einer kurzzeitigen Hormontherapie auf den prophylaktischen Nutzen der Salpingo-Oophorektomie wurde bislang nicht nachgewiesen (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft & AWMF), 2013).

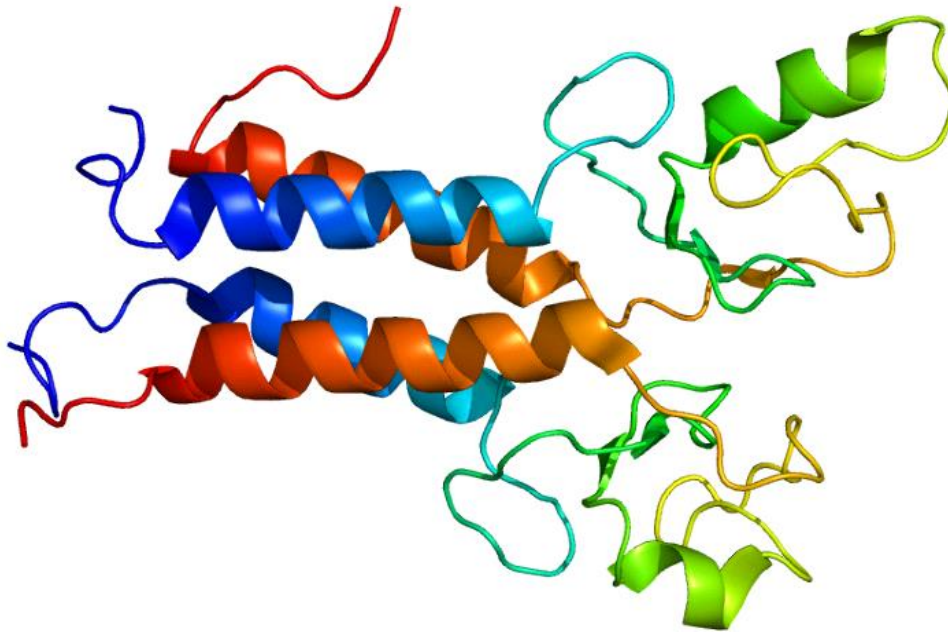


Abbildung 2: Struktur eines heterodimeren BRCA1/BARD1 RING-RING Komplexes (Brzovic, Rajagopal, Hoyt, King, & Klevit, 2001).

## 1.2. Tubare Vorläuferläsionen

### 1.2.1. Histologischer Aufbau der Tuba uterina

Die Tuba uterina wird in Infundibulum, Ampulla, Isthmus und Pars uterina unterteilt. Am Ende des Infundibulums befinden sich die Fimbriae, die der Aufnahme der Eizelle vom Ovar dient. Die Ampulla zeichnet sich durch einen umfangreichen Faltenapparat aus, der zum Isthmus hin abnimmt. Der Pars uterina mündet über das Ostium uterinum tubae in das Uteruslumen. Die Wand der Tuba uterina besteht aus Tunica mucosa, Tunica muscularis, Tela subserosa und Tunica serosa. Die Tunica mucosa bildet die für die Ampulla typischen Längsfalten, von denen Sekundär- und Tertiärfalten ausgehen. Das Gerüst der Falten ist die von zahlreichen Blut- und Lymphgefäßen durchzogene Lamina propria aus lockerem Bindegewebe. Das Tubenepithel besteht aus einschichtig prismatischen Zellen, Flimmerzellen sowie Drüsenzellen. Letztere sind für das Tubenmilieu verantwortlich. Die Flimmerzellen sorgen mit ihrem uteruswärts gerichteten Zilienschlag zusammen mit der Peristaltik der Muskulatur für den Transport der Eizelle. Die glatte Muskulatur der Tuba uterina baut sich aus der mukosanahen tubeneigenen Muskularis, subseröser Muskelbündel in Begleitung von Gefäßen und Muskelbündel unter dem Peritoneum auf (Lüllmann-Rauch, 2003).

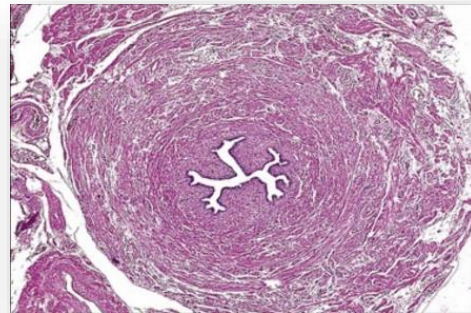
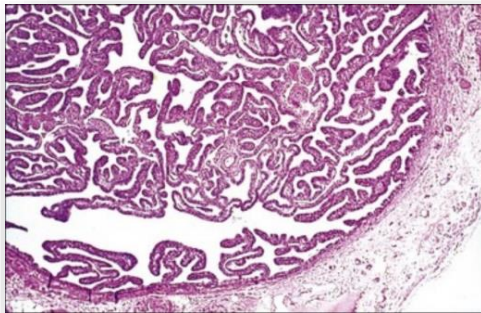


Abbildung 3 und 4: Ampulla (links) und Isthmus (rechts) einer unauffälligen Tuba uterina (Mutter & Prat, 2014).

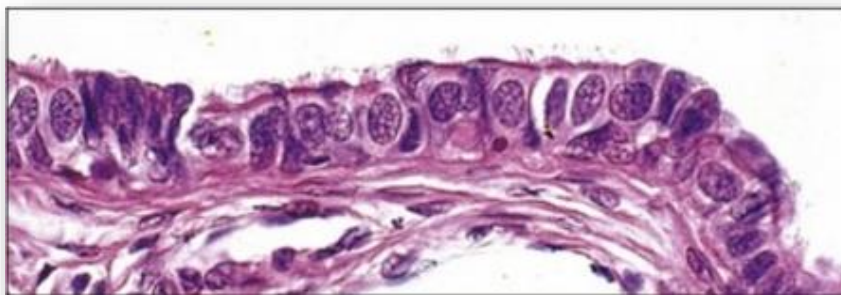


Abbildung 5: unauffälliges Tubenepithel bestehend aus Zilien-tragenden Zellen und sekretorischen Zellen (Mutter & Prat, 2014).

### 1.2.2. Die p53-Signatur

In der Vergangenheit konnten verschiedene Veränderungen des Epithels der Tuba uterina identifiziert werden. In bestimmten Abschnitten kann die für das Tubenepithel typische Mischung aus zilientragenden und sekretorischen Zellen verloren gehen. Das Epithel besteht dort ausschließlich aus sekretorischen Zellen (Mutter & Prat, 2014). Die Hämatoxylin-Eosin(HE)-Färbung zeigt ein einreihiges oder pseudostratifiziertes Tubenepithel ohne Atypien. Liegt zusätzlich eine Beschädigung der DNA in Form einer p53-Mutation in mindestens 12 benachbarten Zellen vor, spricht man von einer p53-Signatur. Die Proliferationsrate ist niedrig (MIB1-Rate/Ki67-Rate  $<10\%$ ) (Staebler, 2011). Diese morphologisch unauffällige Veränderung befindet sich überwiegend im distalen Ende der Tuba uterina (Mutter & Prat, 2014). Ist eine vermehrte Zellteilung und eine MIB1-Rate  $>10\%$  immunhistochemisch nachweisbar, handelt es sich um eine

proliferierende p53-Signatur. Kennzeichnend ist die Expression von  $\gamma$ -H2AX, einem Protein DNA-geschädigter Zellen. Morphologisch gleicht die proliferierende p53-Signatur einer p53-Signatur ohne erhöhte Proliferation (Staebler, 2011).

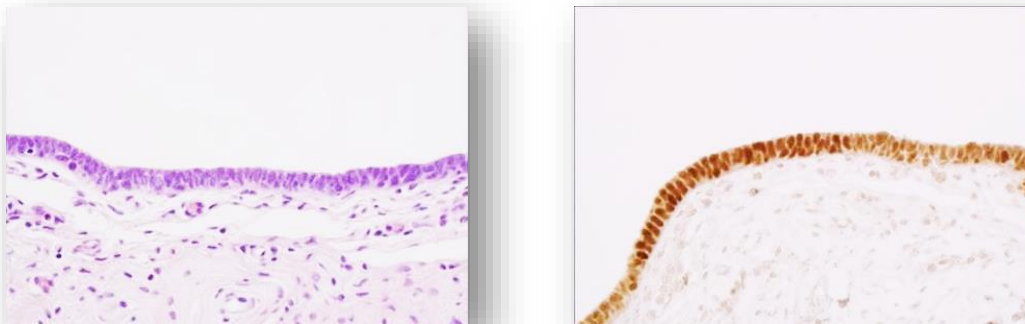


Abbildung 6 und 7: morphologisch unauffällige p53-Signatur (HE, links) und stark positive p53-Färbung (rechts) (Mutter & Prat, 2014).

### 1.2.3. Secretory Cell Outgrowth

Eine weitere Anomalie des Tubenepithels stellt die Überwucherung sekretorischer Zellen dar, ein sogenannter Secretory Cell Outgrowth (SCOUT). Das Fehlen zilientragender Zellen ist auch hier charakteristisch. Mindestens 30 aufeinander folgende sekretorische Zellen bilden einen Scout. Ein häufiger Verlust von PAX2-Expression ist zu beobachten. PAX2 gehört zur Gruppe der Paired-box-Gene und kann in Strukturen nachgewiesen werden, die entwicklungsgeschichtlich auf den Müller-Gang zurückgehen. Sowohl SCOUT als auch p53-Signatur werden als früheste Manifestation einer klonalen Ausdehnung im Vorfeld neoplastischer Proliferation interpretiert. Beide Epithelveränderungen wurden deutlich häufiger in Kombination mit einem serösen intraepithelialen Tubenkarzinom diagnostiziert (Mutter & Prat, 2014) und gelten als dessen Vorläufer (Staebler, 2011).

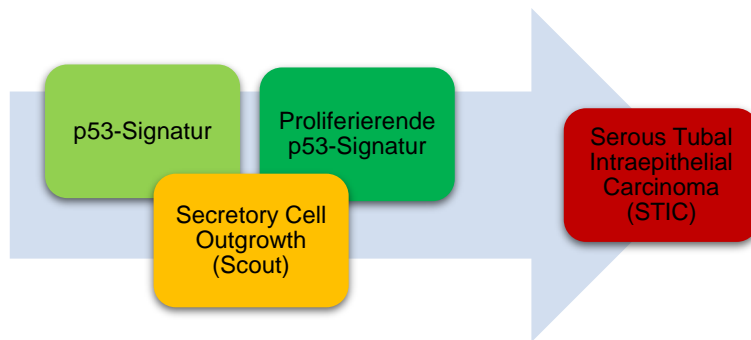


Abbildung 8: potenzielle Vorläuferläsionen eines serösen intraepithelialen Karzinoms (STIC) der Tuba uterina.

#### 1.2.4. Das seröse intraepitheliale Karzinom

Ein seröses intraepitheliales Karzinom der Tuba uterina (Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma, STIC) stellt aufgrund der Subtilität seiner morphologischen Veränderungen eine schwierige histologische Diagnose dar. Kennzeichnend sind hyperchrome, pleomorphe Zellen mit großen, runden Nuklei und prominenten Nukleoli, das Fehlen zilientragender Zellen, der Verlust der Zellpolarität mit und ohne epithelalem Aufbau und gelegentliche Anzeichen eines mitotischen Vorgangs. Eine stark positive Färbung des p53-Markers ist in 75 Prozent der Fälle, seltener eine absolut negative Färbung zu beobachten. Beide Phänomene lassen sich auf eine Mutation des TP53-Gens zurückführen (Kurman, 2013), die in 92 Prozent der Tubenkarzinome (STIC) vorliegt. Der Ki67-Index beträgt mindestens 15 Prozent und kann bis zu 50 Prozent erreichen. Das Risiko einer sekundären Tumorerkrankung in Folge einer Metastase eines lokalen serösen intraepithelialen Tubenkarzinoms (STIC) nach Exzision beträgt sechs Prozent und kann als gering bewertet werden. Sein Ursprung wird in derzeit in einer Wucherung sekretorischer Zellen vermutet (T. Longacre, 2014). Seine Rolle als mögliche primäre Ursache eines serösen high grade Ovarialkarzinoms basiert darauf, dass das STIC am häufigsten bei Patientinnen mit erhöhtem Ovarialkarzinomrisiko im Zuge einer prophylaktischen Adnexektomie oder bei bereits vorhandenem high grade serösem Ovarialkarzinom diagnostiziert wird. In bis zu 85 Prozent der Adnexpräparaten von BRCA1- oder BRCA2-Mutationsträgerinnen, einer Gruppe mit hohem Ovarialkarzinomrisiko, wurden bereits STICs entdeckt. Gleichzeitig wurden kaum seröse intraepitheliale Tubenkarzinome (STIC) bei Frauen ohne erhöhtes Ovarialkarzinomrisiko (T. Longacre, 2014) sowie bei Patientinnen mit muzinösem, endometrioidem Ovarialkarzinom oder Carcinosarkom gefunden (B. Erickson, 2013).



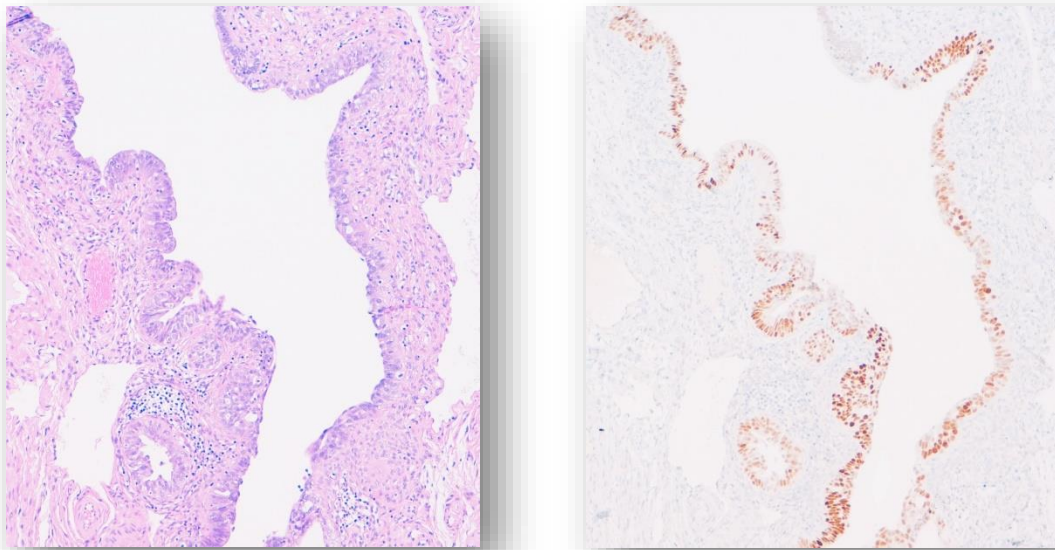


Abbildung 9 und 10: Seröses intraepitheliales Karzinom der Tuba uterina (STIC) in HE-Färbung (links) und p53-Färbung (rechts).

### 1.3. Kanzerogenese epithelialer Ovarialkarzinome

#### 1.3.1. Ein dualistisches Modell

Die Forschungsergebnisse der letzten zwanzig Jahre haben die Sichtweise auf die Entstehung des Ovarialkarzinoms verändert und zur Abkehr von einem monokausalen Entstehungsprinzip geführt. Die Heterogenität der Tumoren, die sich unter dem Begriff des Ovarialkarzinoms zusammenfassen, führte zu einem dualistischen Modell, das epitheliale Tumoren in zwei Gruppen unterteilt und somit ihrem unterschiedlichen Ursprung, Verhalten und klinischem Verlauf Rechnung trägt (B. Erickson, 2013):

Unter Typ1-Tumoren werden mikropapilläre seröse low grade Karzinome, muzinöse und endometrioides sowie klarzellige Karzinome zusammengefasst. Auf Grund ihres langsamen Wachstums werden sie häufig in einem Stadium diagnostiziert, in dem sich der Tumor auf das Ovar begrenzt. Sie entstehen häufig aus Borderline-Tumoren, zeichnen sich durch genetische Beständigkeit und einigen typischen onkogenen Mutationen aus: KRAS-, BRAF-, PTEN-, PIK3CA-, CTNNB1-, ARID1A-, PPP2R1A- (Kurman, 2013), beta-catenin-, ERBB2-Mutationen (R. Kurman, 2008). Die betroffenen Gene nehmen Einfluss auf die Aktivierung der Mitogen Activated Protein Kinase

(MAPK) und somit des Signaltransduktionweges, der für die Weiterleitung von Wachstumssignalen in den Nukleus verantwortlich ist. Klinisch besitzen Typ1-Tumoren ein indolentes Erscheinungsbild bei Diagnosestellung (Kurman, 2013), sowie ein mittleres Diagnosealter der Patientinnen von 43 Jahren.

25% aller malignen Ovarialtumoren gehen auf Typ1-Tumoren zurück (R. Kurman, 2008).

Davon abzugrenzen sind Typ2-Tumoren. Zu ihnen zählen das high grade seröse Karzinom, das high grade endometrioide Karzinom, das undifferenzierte und das maligne gemischt-mesodermale Karzinom (Kurman, 2013). Das high grade seröse Karzinom stellt mit 90 Prozent den Hauptanteil aller serösen Ovarialtumoren. Charakteristisch sind ein aggressives Wachstum und der Befall benachbarter Strukturen und Organe in einem frühen Entwicklungsstadium. Typ2-Tumoren sind schlecht differenziert, weisen eine hohe genetische Instabilität und eine typische Mutation des TP53-Tumorsuppressor-Gens auf. Als histologische Merkmale dieser Tumorgruppe gelten das Vorkommen von Nekrosen, große, pleomorphe Zellkerne, Mitosen, das Vorhandensein mehrerer Zellkerne, eine Überexpression von p53-Marker und ein papilläres Wachstum (R. Kurman, 2008).

Typ1-Tumoren	Typ2-Tumoren
<ul style="list-style-type: none"><li>• seröse low grade Karzinome</li><li>• muzinöse Karzinome</li><li>• endometrioide Karzinome</li><li>• klarzellige Karzinome</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• seröse high grade Karzinome</li><li>• endometrioide high grade Karzinome</li><li>• maligne gemischt-mesodermale Karzinome</li><li>• undifferenzierte Karzinome</li></ul>

Abbildung 11: Typ1- und Typ2-Ovarialtumoren nach der WHO-Klassifikation von 2014.

Es werden unterschiedliche Entstehungsmechanismen diskutiert: die traditionelle Sichtweise geht von einem Trauma des ovariellen Oberflächenepithels während der

Ovulation aus. Eine anschließende metaplastische Umwandlung zu Müllerepithel und neoplastische Veränderungen sind Grundlage der Tumorentstehung (T. Longacre, 2014). Eine neue Herangehensweise stellt das Ovar als Ursprung der sich später dysplastisch verändernden Zellen in Frage und sieht die Absiedelung von Epithelzellen aus der Tuba uterina auf die Ovaroberfläche zum Zeitpunkt der Ovulation als Ursache. Die dabei entstehende kortikale Inklusionszyste und die dysplastische Veränderung des nun eingeschlossenen Müllerepithels führen anschließend zur Tumorgenese (Kurman, 2013). Anders als das Ovar differenziert sich die Tuba uterina im Laufe der sexuellen Entwicklungsgeschichte aus dem Müller-Gang (B. Erickson, 2013). Beide Theorien versuchen der Anwesenheit von Müller-Epithel am Ovar und in einem Teil der kortikalen Inklusionszysten Rechnung zu tragen.

Eine weitere, neue Hypothese beinhaltet die sekundäre Infiltration des Ovars durch Zellen eines serösen intraepithelialen Karzinoms der Tuba uterina, genannt STIC (serous tubal intraepithelial carcinoma). Der distale Anteil und insbesondere die Fimbriae der Tuba uterina gelten auf Grund ihrer engen Lagebeziehung zum Ovar als wahrscheinlicher Ursprungsort der verantwortlichen Oberflächenepithelzellen. Untersuchungen an prophylaktisch ektomierten Adnexen zeigten in diesem Bereich der Tuba invasive und noninvasive Epithelveränderungen, jedoch Ovarien ohne pathologischen Befund. In Fällen eines zur selben Zeit diagnostizierten high grade serösen Karzinoms und eines serösen intraepithelialen Karzinoms der Tuba (STIC) konnte in 92 Prozent dieselbe TP53-Mutation und somit eine klonale Verwandtschaft beider Tumore festgestellt werden. Im Vergleich zu den high grade serösen Karzinomen wurden in den STIC-Zellen verkürzte Telomere nachgewiesen, eine der frühesten molekularen Veränderungen in der Tumorentstehung (Chene et al., 2013). Ihr Vorhandensein untermauert die These, dass Veränderungen des Oberflächenepithels der Tuba uterina primär für die ovarielle Kanzerogenese verantwortlich sind und nicht umgekehrt ein tumoröses Geschehen am Ovar für Veränderungen des Tubenepithels (Kurman, 2013). Für Typ2-Tumoren konnte bislang kein Vorläufer, vergleichbar mit den Borderline-Tumoren der Typ1-Gruppe, identifiziert werden (R. Kurman, 2008). In nur sehr seltenen Fällen kann von der Entstehung eines high grade serösen Karzinoms auf dem Boden eines low grade serösen Karzinoms ausgegangen werden (T. Longacre, 2014). Das mittlere Diagnosealter der Patientinnen mit einem Typ2-Tumor liegt bei 61 Jahren. (R. Kurman, 2008).

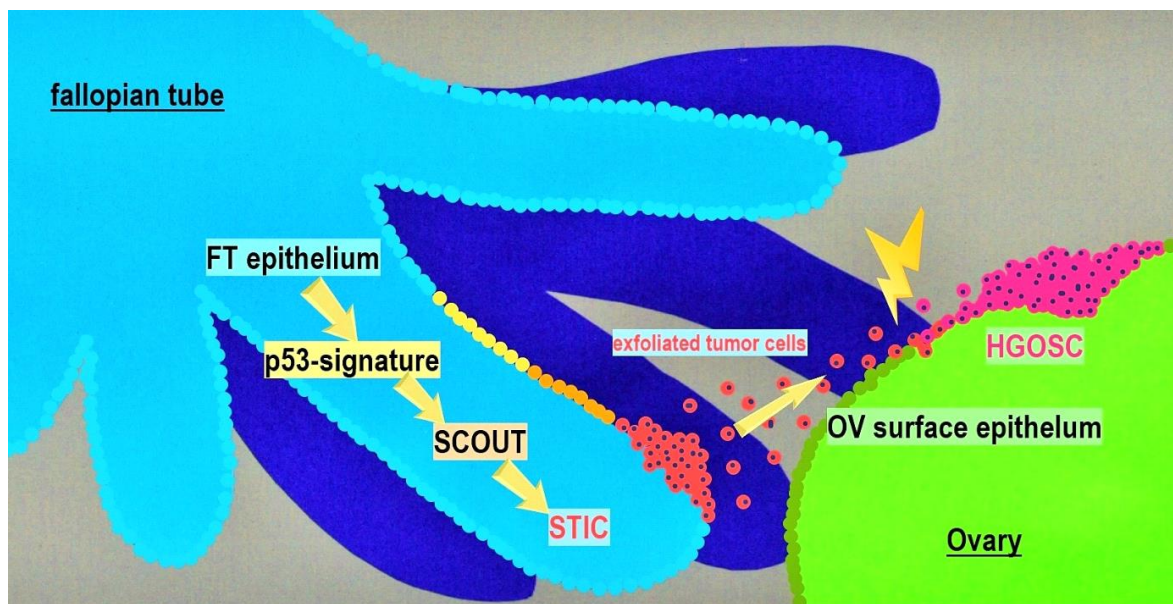


Abbildung 12: schematische Darstellung der ovariellen Tumorentstehung durch Absiedelung entarteter tubarer Epithelzellen.

An dieser Stelle soll auf einen weiteren Entstehungsmechanismus hingewiesen werden, auf den jedoch in dieser Arbeit nicht weiter eingegangen werden kann: Im Gegensatz zum stochastischen Tumormodell, das den möglichen Ausgang eines malignen Tumors prinzipiell in jeder Zelle sieht, konzentriert sich die Tumorstammzellhypothese auf spezielle Eigenschaften der Stammzellen: die Selbsterneuerung und das Potenzial zur differenzierten Umwandlung in unterschiedliche Zelltypen. Aufgrund dieser Charakteristika wird ausschließlich der Gewebstammzelle die Anhäufung potenziell kritischer Mutationen zu geschrieben. Weiterführende Informationen bietet die Publikation „Bedeutung der Tumorstammzellhypothese für das Verständnis des Ovarialkarzinoms“ von Vochem et. al. (Vochem, Einkenkel, Horn, & Ruschpler, 2014).

#### 1.4. Fragestellung

Eine Reihe von Untersuchungen führte zur einer neuen Auffassung der Genese seröser high grade Ovarialkarzinome. Seröse intraepitheliale Tubenkarzinome (STIC) werden bei Patientinnen mit einem high-grade serösen Ovarialkarzinom deutlich häufiger diagnostiziert als bei Patientinnen ohne malignem Geschehen. Präparate von BRCA1/2-Mutationsträgerinnen nach prophylaktischer Adnexektomie zeigen eine höhere Anzahl dieser intraepithelialen, tubaren Läsionen (STIC) im Vergleich zu Adnexen von Patientinnen ohne gesteigertem Ovarialkarzinomrisiko. Das Tubenepithel hat sich als ein potenzieller Ausgangspunkt zur Entwicklung eines serösen high-grade Ovarialkarzinoms etabliert.

Der pluralistische Aspekt der Kanzerogenese darf weiterhin nicht außer Acht gelassen werden. Tubae uterinae ohne pathologischen Befund bei Diagnose eines serösen high-grade Ovarialkarzinoms und hereditär erhöhtem Karzinomrisiko lassen an einer Monokausalität des neu entdeckten Entstehungsmechanismus zweifeln.

Aufgabe der vorliegenden Studie ist die Untersuchung epithelialer tubarer Veränderungen an Adnexpräparaten von BRCA1/2-Mutationsträgerinnen, die sich einer prophylaktischen Salpingo-Oophorektomie unterzogen haben. Die Häufigkeit diagnostizierter p53-Signaturen, Secretory Cell Outgrowth (SCOUT) und seröser intraepithelialer Tubenkarzinome (STIC) soll Ausgangspunkt für eine erneute Bewertung der dargestellten Theorie zur Tumorgenese sein. Variablen wie BRCA1/2-Status und Alter der Patientinnen sowie diagnostizierte Karzinome der Tuba uterina und des Ovars werden in die Auswertung miteinbezogen.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Kollektiv

#### BRCA-Kollektiv

Das Kollektiv besteht aus Adnexpräparaten von 44 Patientinnen der Kliniken der Ludwig-Maximilians-Universität, die sich einer prophylaktischen Salpingo-Oophorektomie unterzogen hatten. In fünf Fällen bestanden klinische Auffälligkeiten des Ovars. In 39 Fällen war die genetische Prädisposition allein Grund für den Eingriff. Das in Formalin fixierte und in Paraffin eingebettete Material stammt aus dem Archiv des pathologischen Instituts. Der Nachweis einer BRCA1- oder BRCA2-Mutation und die vollständige Paraffineinbettung der Adnexe wurden als Ausschlusskriterien herangezogen. Die im pathologischen Institut verwendete Software PathoPro diente als Suchmaschine, um geeignete Patientenfälle zu detektieren. Anschließend wurden bereits vorhandene HE-Schnitte unter dem Lichtmikroskop begutachtet. Entsprechende Paraffinblöcke wurden aus dem Archiv geordert, um weitere Schnitte herzustellen. Eine Übersicht über das Alter der Patientinnen, Mutationsvariante, Zeitraum und Grund der Behandlung gibt folgende Tabelle:

44 BRCA1/2-positive Patientinnen			
28 BRCA1-positiv. 16 BRCA1-positiv.	Durchschnittsalter 51 Jahre. (Jüngste Patientin 33 Jahre, älteste Patientin 79 Jahre alt)	Behandlung erfolgt zwischen April 2005 und Juli 2014.	39 Fälle prophylaktischer Adnexektomie auf Grund bekannter BRCA-Mutation.  5 Fälle Adnexektomie auf Grund klinisch auffälligem Ovar.

Abbildung 13: Informationen zu Kollektiv der BRCA1/2-positiven Patientinnen im Überblick.

In den fünf Fällen mit klinisch auffälligem Ovar zeigten sich drei Ovarialkarzinome und zwei Tubenkarzinome. Bezüglich FIGO-Stadium und Mutationsvariante siehe Abbildung 14:

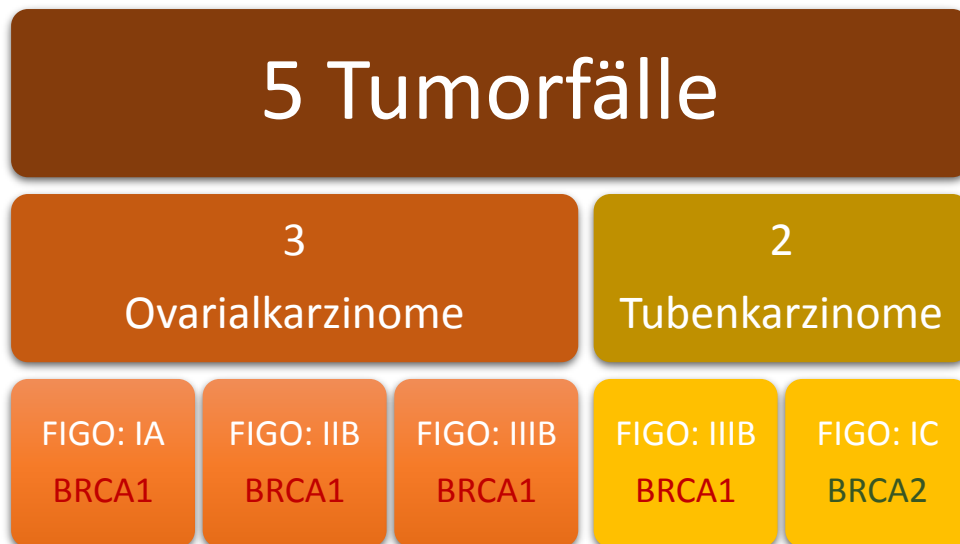


Abbildung 14: Informationen zu den fünf BRCA1/2-positiven Tumorfällen im Überblick.

### Kontrollkollektiv

Das Kontrollkollektiv besteht aus Präparaten von 48 Patientinnen, die sich einer Hysterektomie mit Adnexektomie unterzogen hatten, bei denen kein erhöhtes hereditäres Ovarialkarzinomrisiko bekannt ist und kein Ovarialkarzinom diagnostiziert wurde.

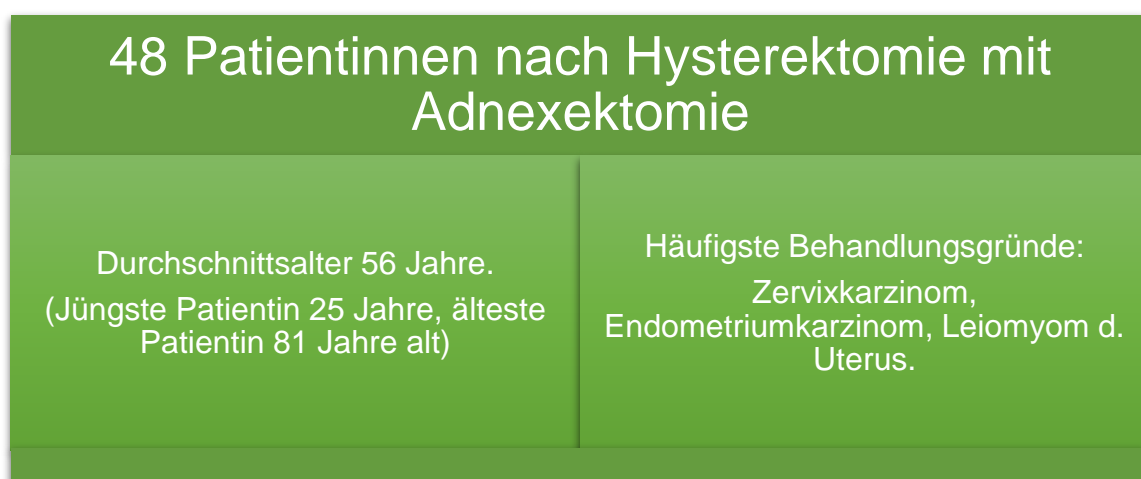


Abbildung 15: Daten zum Kontrollkollektiv.

## 2.2. Geräte

Mikrotom	Rotationsmikrotom, Microm International GmbH, Walldorf, Deutschland
Wasserbad	MEDAX GmbH & Co.KG, Deutschland
Lichtmikroskop	Laborlux, Leitz, Wetzlar, Deutschland
Mikrowelle	Miele & Cie. KG, Gütersloh, Deutschland
Waage	Sartorius AG, Göttingen, Deutschland
Brutschrank	Memmert GmbH & Co.KG, Schwabach, Deutschland
pH-Meter	WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH, Weilheim, Deutschland
Färbemodule	Tissue-Tek Prisma, Sakura Finetek Europe B.V., Alphen aan den Rijn, Niederlande  Ventana BenchMark XT IHC/ISH, Roche Diagnostics International AG , Rotkreuz, Schweiz
Scanner	Aperio ScanScope CS2, Leica Biosystems, Buffalo Grove, USA

## 2.3. Materialien

Objektträger	Menzel-Gläser Super Frost/Plus, Menzel GmbH&Co.KG, Braunschweig, Deutschland
Deckgläser	Menzel-Gläser, Menzel GmbH&Co.KG, Braunschweig, Deutschland
Deckfolien	Tissue-Tek Coverslipping Film, Sakura Finetek Europe B.V., Alphen aan den Rijn, Niederlande
Pipetten/-spitzen	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Glasküvetten	aus dem Bestand des Pathologischen Instituts



Software	SPSS Version 22.0, PASW Statistics, SPSS Inc., IBM, Chicago, IL, USA
	PathoPro, Institut für medizinische Software, ifms GmbH, Saarbrücken, Deutschland
	ImageJ, National Institute of Health, Bethesda, USA

## 2.4. Chemikalien

Paraffin	Histosec Pastillen ohne Dimethylsulfoxid, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Aqua dest.	Firma Noll, München, Deutschland
Xylol	Häffner GmbH & Co. KG, Asperg, Deutschland
Ethanol	Staub & Co. – Silbermann GmbH, München, Deutschland
Hämalaun	Waldeck GmbH & Co. KG, Münster, Deutschland
Eosin alk.	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
ProTaq VI Antigen Enhancer	Quartett GmbH, Berlin, Deutschland
ImmPRESS Reagent Kit	Vector Laboratories, Inc., Burlingame, USA
Anti-RABBIT Ig	
Vectastain ABC-Kit Elite Universal	Vector Laboratories, Inc., Burlingame, USA
AEC Substrate-Chromogen	Dako Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland
Hematoxylin Gill's Formula	Vector Laboratories, Inc., Burlingame, USA
Kaisers Glyceringelatine	Merck Millipore, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

Target Retrieval Solution                      Dako    Deutschland    GmbH,    Hamburg,  
Deutschland

DAB+                                              Dako    Deutschland    GmbH,    Hamburg,  
Deutschland

0,05M TRIS Puffer:

34,25g Trizma hydrochlorid                      Sigma-Aldrich, St. Louis, USA

43,90g Sodium Chloride                      Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

4,50g Trizma base                              Sigma-Adlrigh, St. Louis, USA

5L Aqua dest.                                  Firma Noll, München, Deutschland

## 2.4.    Färbungen

Die Hämatoxylin-Eosin(HE)-Färbung wurde im Labor des Pathologischen Instituts (Standort Innenstadt) vollautomatisch durchgeführt.

### HE

Färbemodul	Tissue-Tek Prisma
Hersteller	Fa. Sakura

Gebrauchsfertige Lösungen, die verwendet wurden:

- Aqua dest. (Fa. Noll)
- Xylol (Fa. Häffner)
- 100%, 96%, 70% Ethanol (Fa. Staub-Silbermann)
- Hämalaun nach Mayer (Fa. Waldeck)
- Eosin alkoholisch (Fa. Sigma-Aldrich)

Folgende Färbungen wurden im Labor des pathologischen Instituts (Standort Innenstadt) manuell erstellt: CD44, LEF1, PAX-2.

## CD44

Detektionssystem	Vectastain ABC-Kit Elite Universal
Hersteller	Fa. Vector
Primär-AK	CD44
AK-Spezies	Monoclonal Mouse
Hersteller	Fa. Novus Biologicals

### Protokoll:

- Entparaffinierung
- Vorbehandlung:  
Mikrowelle 750W: ProTaq VI Antigen Enhancer (Fa. Quartett).  
Kochzeit: 2 mal 15 Minuten.  
20 Minuten bei Raumtemperatur abkühlen lassen.
- 2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer pH7,5.
- Blockierung der endogenen Peroxidase.  
10 Minuten 7,5% wässriges Wasserstoffperoxid bei Raumtemperatur.  
10 Minuten fließend wässern.
- 2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer.
- 20 Minuten blocking serum (Vectastain ABC-Kit).  
Überstand abkippen.
- Primär-AK CD44 1:100.  
Inkubationszeit: 60 Minuten Raumtemperatur.
- 2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer.
- 30 Minuten biot. Sekundär-AK (Vectastain ABC-Kit).
- 2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer.
- 30 Minuten ABC-Komplex (Vectastain ABC-Kit).
- 2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer.

- Chromogen: 10 Minuten AEC+ (Fa. Dako).
- 10 Minuten fließend wässern.
- Gegenfärbung: 10 Sekunden Hematoxylin Gill's Formula (Fa. Vector).
- 10 Minuten fließend wässern.
- Eindecken mit Kaisers Glyceringelatine (Fa. Merck)

## LEF1

Detektionssystem	Vectastain ABC-Kit Elite Universal
Hersteller	Fa. Vector
Primär-AK	LEF-1
AK-Spezies	Rabbit
Subtyp	IgG
Hersteller	Fa. Cell Signaling

### Protokoll:

- Entparaffinierung
- Vorbehandlung:  
Mikrowelle 750W: Target Retrieval Solution (Fa. Dako).  
Kochzeit: 2 mal 15 Minuten.  
20 Minuten bei Raumtemperatur abkühlen lassen.
- 2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer pH7,5.
- Blockierung der endogenen Peroxidase.  
10 Minuten 7,5% wässriges Wasserstoffperoxid bei Raumtemperatur.  
10 Minuten fließend wässern.
- 2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer.
- 20 Minuten blocking serum (Vectastain ABC-Kit).  
Überstand abkippen.

- Primär-AK LEF1 1:180.

Inkubationszeit: 60 Minuten.

- 2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer.
- 30 Minuten biot. Sekundär-AK (Vectastain ABC-Kit).
- 2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer.
- 30 Minuten ABC-Komplex (Vectastain ABC-Kit).
- 2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer.
- Chromogen: 3 Minuten DAB+ (Fa. Dako).
- 10 Minuten fließend wässern.
- Gegenfärbung: 10 Sekunden Hematoxylin Gill's Formula (Fa. Vector).
- 10 Minuten fließend wässern.
- Eindecken mit Kaisers Glyceringelatine (Fa. Merck)

## PAX-2

Detektionssystem	ImmPRESS Reagent Kit Anti-RABBIT Ig
Hersteller	Fa. Vector
Primär-AK	PAX-2
AK-Spezies	Monoclonal Rabbit
Klon	EPR8586
Subtyp	IgG
Hersteller	Fa. Abcam

## Protokoll:

- Entparaffinierung
- Vorbehandlung:  
Mikrowelle 750W: Target Retrieval Solution (Fa. Dako).  
Kochzeit: 2 mal 15 Minuten.

20 Minuten bei Raumtemperatur abkühlen lassen.

- 2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer pH7,5.
- Blockierung der endogenen Peroxidase.

10 Minuten 7,5% wässriges Wasserstoffperoxid bei Raumtemperatur.

10 Minuten fließend wässern.

- 2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer.
- 20 Minuten blocking serum (ImmPRESS Reagent-Kit).

Überstand abkippen.

- Primär-AK PAX-2 1:120.

Inkubationszeit: 60 Minuten Raumtemperatur.

- 2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer.

30 min Anti-Rabbit Ig (ImPRESS Reagent-Kit).

- 2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer.
- Chromogen: 10 min AEC+ (Fa. Dako).
- 10 Minuten fließend wässern.
- Gegenfärbung: 10 Sekunden Hematoxylin Gill's Formula (Fa. Vector).
- 10 Minuten fließend wässern.
- Eindecken mit Kaisers Glyceringelatine (Fa. Merck)

Folgende Färbungen wurden im Labor des pathologischen Instituts (Standort Großhadern) vollautomatisch durchgeführt: P16, P53, Ki67, PAX-8, B Catenin.

## P16

Prozedur	XT ultraView DAB v3
Färbemodul	BenchMark XT IHC/ISH (Ventana)
AK-Spezies	Monoclonal Mouse
Hersteller	Ventana Medical Systems, Inc.

**P53**

Prozedur	XT ultraView DAB v3
Färbemodul	BenchMark XT IHC/ISH (Ventana)
AK-Spezies	Mouse
Klon	DO-7
Subtyp	IgG2b kappa
Hersteller	Thermo Scientific™ Lab Vision™

**KI 67**

Prozedur	XT ultraView DAB v3
Färbemodul	BenchMark XT IHC/ISH (Ventana)
AK-Spezies	Monoclonal Mouse
Klon	MIB-1
Subtyp	IgG1 kappa
Hersteller	Dako

**PAX-8**

Prozedur	XT ultraView DAB v3
Färbemodul	BenchMark XT IHC/ISH (Ventana)
AK-Spezies	Monoclonal Mouse
Klon	MRQ-50
Hersteller	Cell Marque

**B Catenin**

Prozedur	XT ultraView DAB v3
Färbemodul	BenchMark XT IHC/ISH (Ventana)
AK-Spezies	Monoclonal Mouse
Klon	14
Subtyp	IgG1

Hersteller	Ventana Medical Systems, Inc.
------------	-------------------------------

## 2.5. Gewebe-Asservierung

Für die Verwendung von Gewebe eines geeigneten Patientenfalls wurde die vollständige Einbettung der Adnexe beider Seiten vorausgesetzt. Die Paraffinblöcke wurden aus dem Archiv des Pathologischen Instituts angefordert und Leerschnitte angefertigt. Die Auswertung durchgeführter Färbungen erfolgte mit Hilfe eines Lichtmikroskops (Laborlux, Firma Leitz). Die Aufarbeitung erfolgte in zwei Schritten.

### 1. Durchgang:

Von allen Blöcken wurden folgende Färbungen durchgeführt:

- Hämatoxylin-Eosin(HE).
- Immunhistochemische Färbungen P53, KI67, PAX-8.

Auswertung aller Färbungen und Dokumentation mittels Excel-Tabelle.

### 2. Durchgang:

Nach Auswertung oben aufgeführter Färbungen wurden von Blöcken, die einen Befund oder Auffälligkeiten zeigen, weitere Färbungen durchgeführt:

- Immunhistochemische Färbungen PAX-2, B Catenin.
- Immunhistochemische Färbungen zur Stammzellmarkierung CD44, LEF1.

Anschließend Auswertung in Verbindung bereits vorhandener Ergebnisse und Dokumentation mittels Excel-Tabelle.

## 2.6 Auswertung

### Histologische und immunhistochemische Auswertung

Die Kriterien für den Befund einer p53-Signatur, eines Secretory Cell Outgrowth (SCOUT) oder eines serösen intraepithelialen Tubenkarzinoms (STIC) werden im Folgenden aufgeführt:



p53-Signatur	proliferierende p53-Signatur	SCOUT	STIC
<ul style="list-style-type: none"> <li>• mind. 12 benachbarte Zellen:</li> <li>• vermehrt sekretorische Zellen</li> <li>• morphologisch nicht identifizierbar</li> <li>• p53-positiv</li> <li>• Ki67&lt;10%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• mind. 12 benachbarte Zellen:</li> <li>• vermehrt sekretorische Zellen</li> <li>• morphologisch nicht identifizierbar</li> <li>• p53-positiv</li> <li>• Ki67&gt;10%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• mind. 30 benachbarte Zellen:</li> <li>• vermehrt sekretorische Zellen</li> <li>• B Catenin nukleär positiv</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• morphologisch identifizierbar:</li> <li>• hyperchrome, pleomorphe Zellen</li> <li>• große, runde Nuklei mit prominenten Nukleoli</li> <li>• Fehlen zilientrager Zellen</li> <li>• häufig Mitosen</li> <li>• p53 stark positiv oder negativ</li> <li>• Ki67&gt;10%</li> </ul>

Abbildung 16: Kriterien zur Diagnosestellung einer p53-Signatur, einer proliferierenden p53-Signatur, eines SCOUT und eines STIC.

Alle oben genannten Läsionen des Tubenepithels wurden darüber hinaus auf ihr Verhalten in der PAX-2-Färbung analysiert.

Im Bereich des Übergangs von Tubenepithel zu angrenzendem Serosa-Epithel wurden die Stammzellmarker CD44 und LEF1 untersucht. Die Kriterien für den Nachweis einer Stammzell-Nische siehe Abbildung 17:

Stammzell-Nische
<ul style="list-style-type: none"> <li>• mind. 4 CD44- und LEF1-positive Zellen</li> <li>• mind. 4 LEF1-positive Zellen</li> <li>• mind. 4 CD44-positive Zellen</li> </ul>

Abbildung 17: Kriterien für eine Beurteilung der Stammzell-Nische.

## Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde anhand der Software SPSS Version 22.0 vorgenommen. Der Chi-Quadrat-Test und der Fisher-Exakt-Test geben Aufschluss über die Signifikanz der vorliegenden Ergebnisse. Ein P -Wert von < 0.05 wurde als statistisch signifikant gewertet.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Intraepitheliale tubare Läsionen bei BRCA1/2-Mutationsträgerinnen

Unter den 44 BRCA1/2-Mutationsträgerinnen weisen 29 Fälle (65,91%) keinen pathologischen Befund im Bereich der Tuba uterina auf, in insgesamt 15 Fällen (34,09%) sind Veränderungen der Tuba uterina (p53-Signatur, SCOUT, STIC) nachweisbar.

Vier dieser Fälle sind mit einem high grade serösen Ovarial- oder Tubenkarzinom vergesellschaftet; zwei Ovarialkarzinomfälle zeigen eine p53-Signatur und ein Secretory Cell Outgrowth (SCOUT). Seröse intraepitheliale Tubenkarzinome (STIC) sind bei beiden Tubenkarzinomen zu beobachten, zusätzlich einmal ein Secretory Cell Outgrowth (SCOUT).

Sechs Fälle (15,38%) ohne Ovarial-, bzw. Tubenkarzinom besitzen als alleinige tubare Läsion eine p53-Signatur, drei Fälle (7,69%) einen Secretory Cell Outgrowth (SCOUT). In zwei Fällen (5,13%) sind jeweils ein seröse intraepitheliales Tubenkarzinom (STIC) in Kombination mit einer p53-Signatur vorhanden.

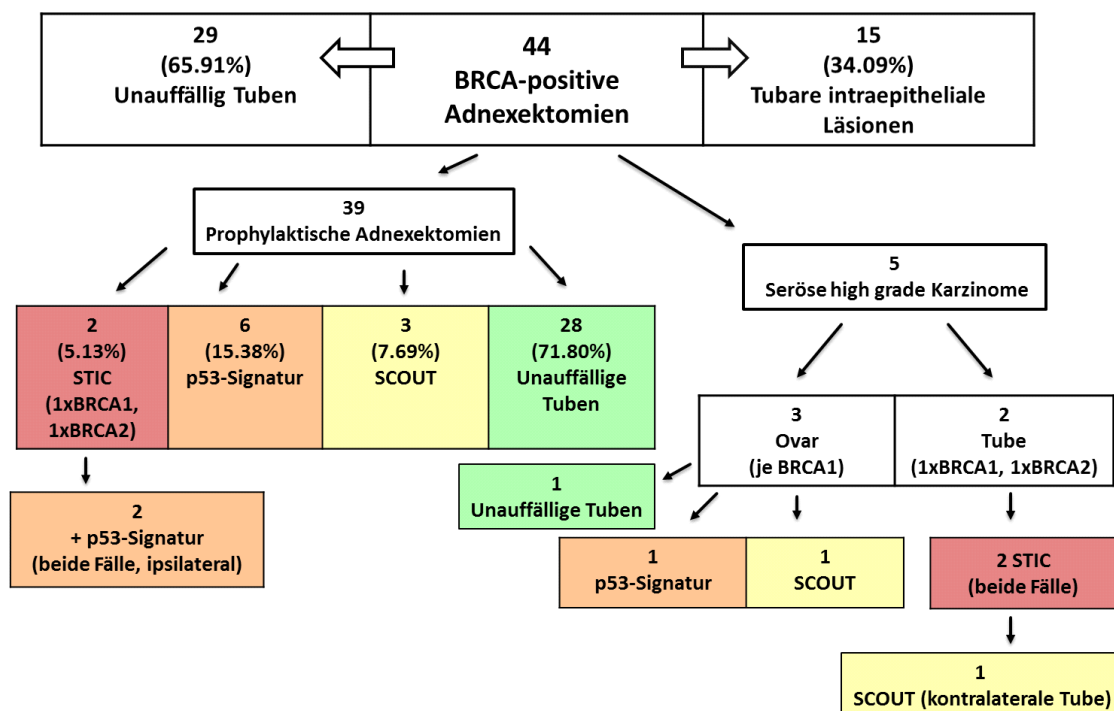


Abbildung 18: Ergebnisse im Kollektiv der BRCA1/2-Mutationsträgerinnen im Überblick.

Bei 24 prophylaktisch adnexektomierten Patientinnen (61,54%) ist eine Mutation des BRCA1-Gens, bei 15 Patientinnen (38,46%) eine Mutation des BRCA2-Gens nachgewiesen. Unter den BRCA1-Mutationsträgerinnen sind 16 unauffällige Tubae uterinae (41,03%), zwei Fälle eines Secretory Cell Outgrowth (SCOUT; 5,13%), fünf p53-Signaturen (12,82%) und ein seröses intraepitheliales Tubenkarzinom zusammen mit einer p53-Signatur (2,56%) zu konstatieren. 12 von 15 BRCA2-positiven Fällen zeigen keinen Befund der Tuba uterina. Drei Fälle weisen jeweils eine p53-Signatur, einen Secretory Cell Outgrowth (SCOUT) und ein seröses intraepitheliales Tubenkarzinom (STIC) plus p53-Signatur (jeweils 2,56%) auf. Nachfolgende Übersicht fasst die Ergebnisse in Abhängigkeit von der vorliegenden Mutationsvariante zusammen:

Mutationsvariante	Fallzahlen	Unauffällige Tuba uterina	SCOUT	P53-Signatur	STIC
<b>BRCA1</b>	24 (61.54%)	16 (41.03%)	2 (5.13%)	5 (12.82%)	1 (mit p53-Signatur) (2.56%)
<b>BRCA2</b>	15 (38.46%)	12 (30.77%)	1 (2.56%)	1 (2.56%)	1 (mit p53-Signatur) (2.56%)
<b>gesamt</b>	39 (100%)	28 (71.80%)	3 (7.69%)	6 (15.38%)	2 (5.13%)

Abbildung 19: Tabellarische Aufschlüsselung der Ergebnisse in Bezug auf die Mutationsvariante.

Unter den drei Fällen eines diagnostizierten high grade serösen Ovarialkarzinoms weist ein Fall einen Secretory Cell Outgrowth (SCOUT) der rechten Seite bei beidseitiger Tumordinfiltration der Tuba uterina auf. Ein weiterer Fall zeigt eine p53-Signatur bei tumorfreier Tuba uterina. Die Tubae uterinae des dritten Falls sind ohne Befund. Bei diesen drei Patientinnen ist eine BRCA1-Genmutation nachgewiesen, ebenso bei einer Patientin mit einem Tubenkarzinom. In diesem Fall sind seröse intraepitheliale Tubenkarzinome (STIC) beidseitig zu beobachten. Der Haupttumor ist einseitig vorhanden. Eine weitere Patientin mit Tubenkarzinom besitzt eine Mutation des BRCA2-Gens. Das entsprechende Adnexpräparat zeigt eine einseitige Lokalisation des Tumors und ein kontralateral gelegenes seröses intraepitheliales Tubenkarzinom (STIC) sowie einen Secretory Cell Outgrowth (SCOUT).

Tumorklassifikation, FIGO- und TNM-Klassifikation der fünf high grade Tumorfälle bei BRCA1/2-Mutation sowie epitheliale Läsionen der Tuba uterina stellt die nachfolgende

Übersicht dar. Rot hinterlegt sind Fälle eines diagnostizierten Ovarialkarzinoms, blau die eines Tubenkarzinoms.

FIGO, TNM	BRCA	Tumorlokalisation		Läsion der Tuba uterina		
		Ovar	Tuba uterina	SCOUT	p53-Signatur	STIC
IA, pT1a	1	Linkes Ovar (intakte Oberfläche) Rechtes Ovar tumorfrei	beidseits tumorfrei	-	-	-
IIB, pT2a	1	Beidseits mit Oberflächenbeteiligung	Tumor beidseits	Rechte Tuba uterina	-	-
IIIB, pT3b	1	Beidseits mit Haupttumormasse rechts (überwiegend zystischer Tumor, möglicherweise auf der Grundlage eines vorangegangenen Borderline-Tumors)	Lymphangiosis rechts Linke Tuba uterine tumorfrei	-	Linke Tuba uterina	-
IIIB, pT3b	1	Beidseits tumorfrei	Rechte Tuba uterina: fimbriae Linke Tuba uterine tumorfrei	-	-	Beidseits
IC, pT1c	2	Beidseits tumorfrei	Tumor einseitig: fimbriae	Kontralateral zu Tumor	-	Kontralateral zu Tumor

Abbildung 19: Tabellarische Aufstellung von FIGO-/ und TNM-Klassifikation, Mutationsvariante und beobachteter Veränderungen an Ovar und Tuba uterina der fünf Tumorfälle.

Proliferierende p53-Signaturen wurden in keinem Fall der Mutationsträgerinnen beobachtet.

Alle epithelialen Läsionen der Tuba uterina im Kollektiv der BRCA1/2-Mutationsträgerinnen wurden zusätzlich auf ihr Verhalten in der PAX2-Färbung getestet. Es wurden dabei alle beobachteten Epithelveränderungen unabhängig voneinander erfasst. Die 15 Fälle mit epithelialen Befunde aus dem Kollektiv der 44 BRCA1/2-positiven Patientinnen weisen insgesamt 11 p53-Signaturen, fünf seröse intraepitheliale Tubenkarzinome (STIC) und sechs sekretorische Zellüberwucherungen (Scout) auf. Die Epithelläsionen zeigen ein zum Teil sehr diverses Verhalten in der PAX-2-Färbung und werden deshalb in folgender Tabelle von negativ (0%), über schwach (>10%) positiv bis stark (>80%) positiv gestaffelten wiedergegeben:

PAX-2 positiv	0%	<10%	<50%	>50%	>80%	Nicht beurteilbar	Gesamt
Scout	1	3				2	6
P53-Signatur	5	1	1	1	3		11
STIC	3					2	5

Abbildung 20: Tabellarische Übersicht aller Läsionen und ihr Verhalten in der PAX-2-Färbung.

Die Überwucherung sekretorischer Zellen zeigt in drei Fällen eine schwach positive (3/6 <10% positive) PAX-2-Färbung, ein Fall ist PAX-2-negativ (1/6 0% positive Zellen) und zwei Fälle sind nicht beurteilbar (2/6). Unter den p53-Signaturen sind fünf Läsionen PAX-2-negativ (5/11 0% positive Zellen), je eine Signatur zeigt <10% (1/11), <50% (1/11) und >50% (1/11) PAX-2-positive Zellen und drei Läsionen zeigen eine stark positive Färbung (3/11 >80%). Die fünf intraepithelialen Tubenkarzinome sind dreimal PAX-2-negativ (3/5 0% positive Zellen) und zweimal nicht beurteilbar (2/5).

Fälle mit mehreren epithelialen Veränderungen werden bezüglich ihres Verhaltens in der PAX-2-Färbung in folgender Übersicht dargestellt:

Fall A	
Scout	Scout
<10%	<10%

Fall B	
STIC	Signatur
0%	0%

Fall C	
Signatur	Signatur
0%	<10%

Fall D		
STIC	Signatur	Signatur
0%	0%	>80%

Fall E		
STIC	STIC	Scout
n.b.	n.b.	n.b.

Abbildung 21: Tabellarische Übersicht der fünf Fälle mit mehreren Befunden und ihr Verhalten in der PAX-2-Färbung.

Fünf Fälle weisen mehrere Befunde nebeneinander auf (Fall A bis E). Fall A besitzt zwei schwach positive Zellüberwucherungen (<10% PAX-2-positive Zellen), Fall B ein

PAX-2-negatives intraepitheliales Tubenkarzinom sowie eine PAX-2-negative Signatur. Fall C verfügt über eine PAX-2-negative und eine nur schwach positive (<10% positive Zellen) p53-Signatur. Fall D zeigt ein PAX-2-negatives Tubenkarzinom, eine negative Signatur und eine stark positive Signatur (>80% PAX-2-positive Zellen). Die drei Befunde (zwei STIC, ein Scout) aus Fall E können nicht beurteilt werden.

### 3.2. Intraepitheliale tubare Läsionen im Kontrollkollektiv

Intraepitheliale Auffälligkeiten zeigen insgesamt 13 der 48 Patientenfälle (13/48 Fälle, 27.08%) nach Hysterektomie mit Adnexektomie ohne bekanntem Ovarialkarzinomrisiko. Secretory Cell Outgrowth (SCOUT) ist in fünf Fällen (5/48 Fälle, 10,42%), P53-Signaturen in sieben Fällen (7/48 Fälle, 14,58%) und proliferierende P53-Signaturen in einem Fall (1/48 Fälle, 2.08%) zu konstatieren. Seröse intraepitheliale Tubenkarzinome wurden in keinem Fall beobachtet.

Unauffällige Tuba uterina	Auffällige Tuba uterina	SCOUT	p53-Signatur	Prol. p53-Signatur	STIC
35 (72.92%)	13 (27.08%)	5 (10.42%)	7 (14.58%)	1 (2.08%)	0

Abbildung 22: Tabellarische Aufstellung der Ergebnisse des Kontrollkollektivs.

### 3.3. Ergebnisse beider Kollektive im Vergleich

Nachfolgende Grafik stellt beobachtete Veränderungen des Tubenepithels beider Kollektive gegenüber (Angabe in Prozent). Verschiedene Auffälligkeiten an einer Tuba uterina wurden getrennt voneinander erfasst. Läsionen der fünf BRCA1/2-positiven Tumorfälle wurden zur Auswertung in das Kollektiv der Mutationsträgerinnen miteinbezogen. Proliferierende p53-Signaturen und Signaturen ohne erhöhte Proliferation wurden in der Auswertung zusammengefasst.

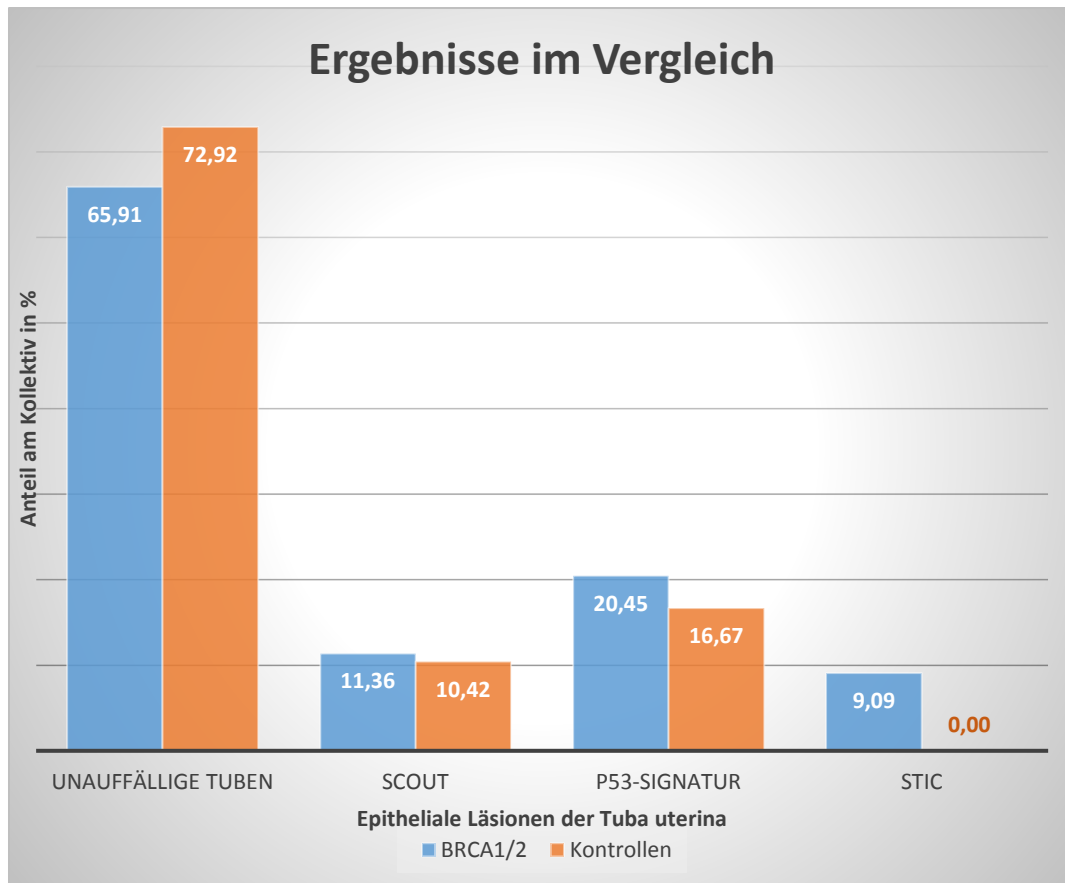


Abbildung 23: Inzidenz tubarer Läsionen bei BRCA1/2-Mutationsträgerinnen und im Kontrollkollektiv.

Allgemein wurden im Kollektiv der Mutationsträgerinnen Veränderungen des tubaren Epithels häufiger erfasst als im Kontrollkollektiv. Die Anzahl unauffälliger Tubae uterinae ist bei den Kontrollpräparaten (35/48 Fälle, 72.92%) allerdings nicht signifikant höher ( $p=0.466$ ) als bei den Präparaten der BRCA1/2-Mutationsträgerinnen (29/44 Fälle, 65.91%).

Überwucherungen sekretorischer Zellen (SCOUT) sind bei BRCA1/2-Mutationsträgerinnen häufiger (5/44 Fälle, 11.36%) als bei fehlender Mutation (5/48 Fälle, 10.42%), jedoch im nicht signifikanten Bereich ( $p=0.884$ ).

Ebenfalls nicht signifikant erhöht ( $p=0.64$ ) ist die Anzahl von p53-Signaturen im Kollektiv der Mutationsträgerinnen (9/44, 20.45%) im Vergleich zum Kontrollkollektiv (8/48, 16.67%).

Das Vorkommen von serösen intraepithelialen Tubenkarzinomen (STIC) im Kollektiv der BRCA1/2-Mutationsträgerinnen ist signifikant erhöht ( $p=0.03$ , 4/44 Fälle, 9.09%). Im Kontrollkollektiv wurde kein STIC beobachtet (0/48 Fälle).

### 3.4. Beobachtungen am Serosa-Übergang

Im Kollektiv der BRCA1/2-Mutationsträgerinnen ist an 12 Präparaten (12/44 Fälle, 27.27%) eine Lef1-positive Färbung des Übergangs von Serosa zu Tubenepithel (TPJ, Tubal Peritoneal Junction) zu beobachten. Bei weiteren 26 Fällen (26/44 Fälle, 59.09%) weist diese Region zusätzlich CD44-positive Zellen auf. In drei Fällen (3/44 Fälle, 6.82%) ist der Übergang LEF1- und CD44-negativ. Bei weiteren drei Patientenfällen (3/44 Fälle, 6,82%) ist diese Region auf keinem der Schnitte dargestellt und kann deshalb nicht beurteilt werden.

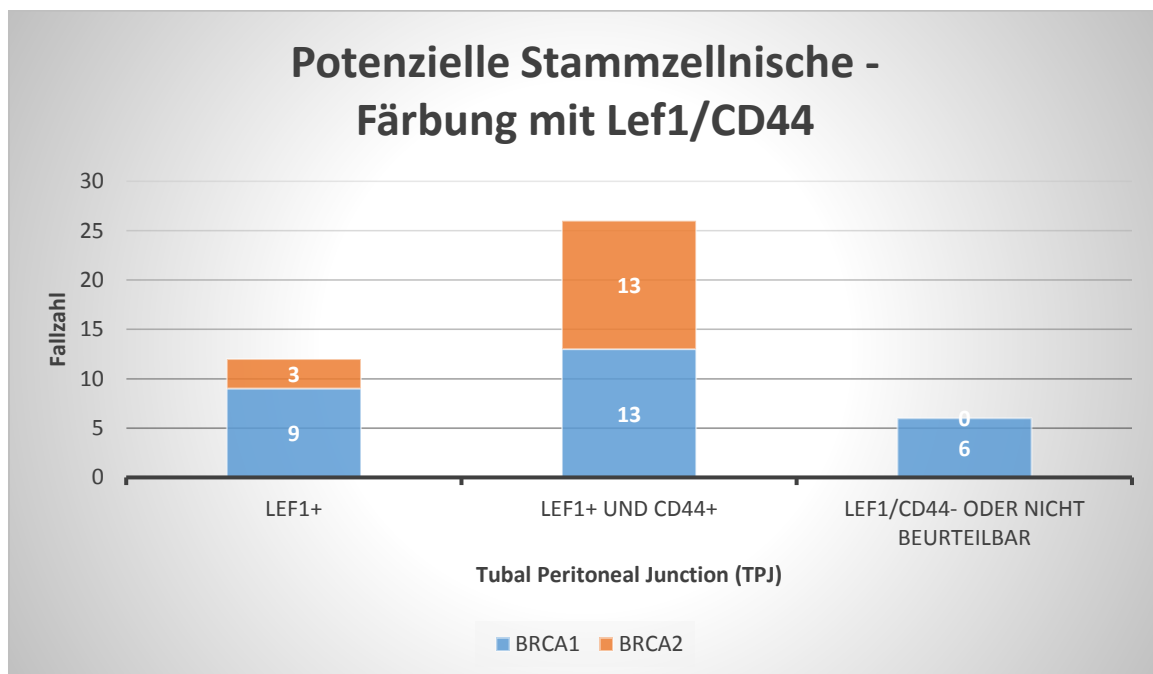


Tabelle 24: Inzidenz beobachteter Auffälligkeiten am Serosaübergang bei BRCA-1/2-Mutationsträgerinnen

Ein Lef1- und CD44-positiver Fall tritt in Kombination mit einem SCOUT und einem high grade serösen Ovarialkarzinom auf. Bei einem Tubenkarzinom ist neben einem SCOUT und einem STIC ein Lef1-positiver Serosaübergang zu beobachten. Die drei weiteren Tumorfälle sind mit unauffälligen oder nicht beurteilbaren Übergängen vergesellschaftet.



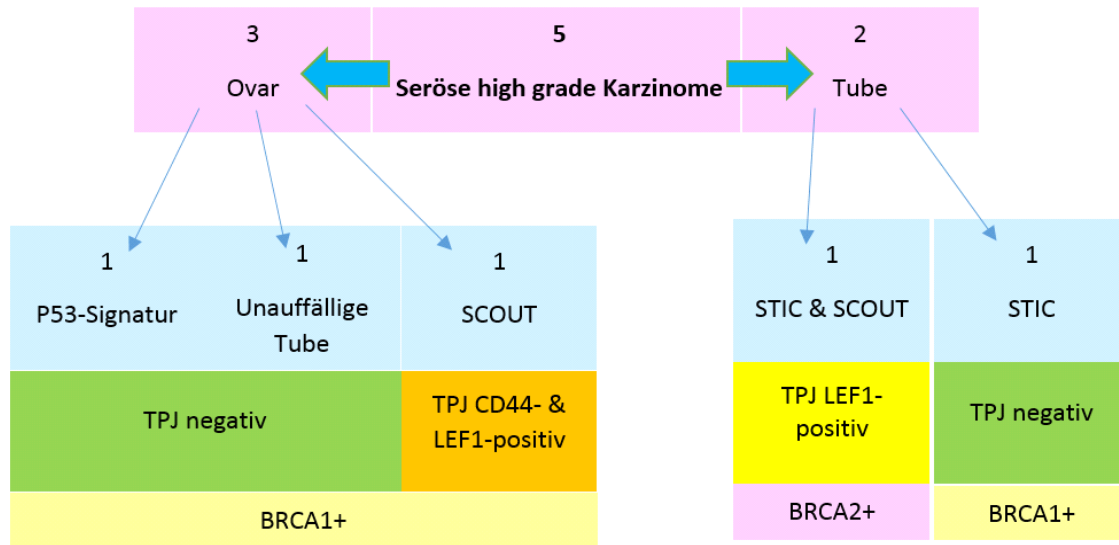
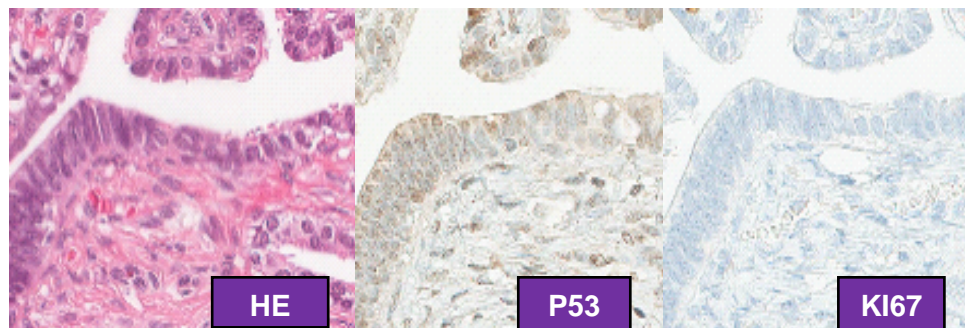


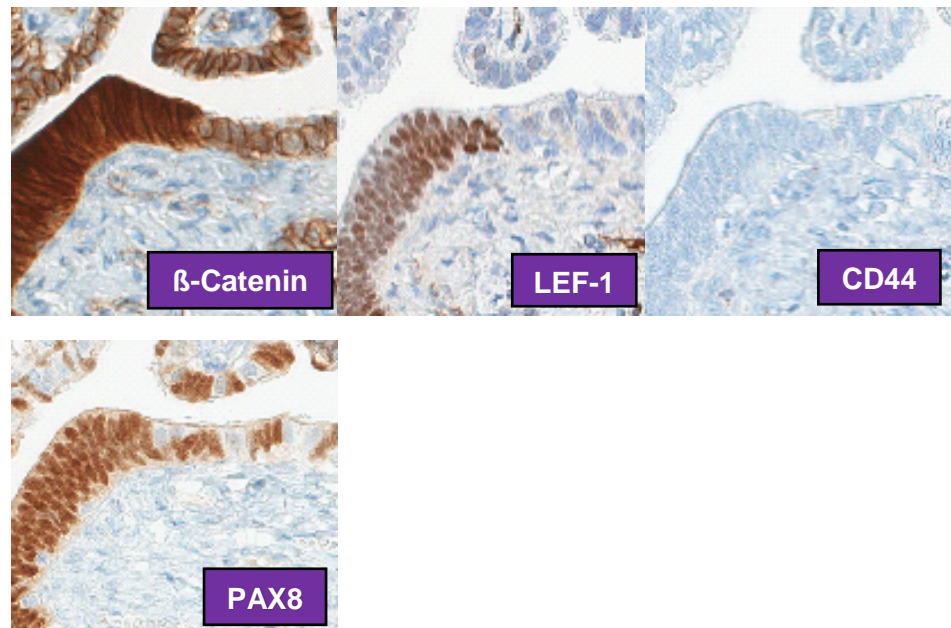
Abbildung 25: tubare Läsionen, positive Färbungen der Stammzellnische und Mutationsvariante der fünf BRCA1/2-positiven Tumorfälle.

### 3.5. Bilddokumentation

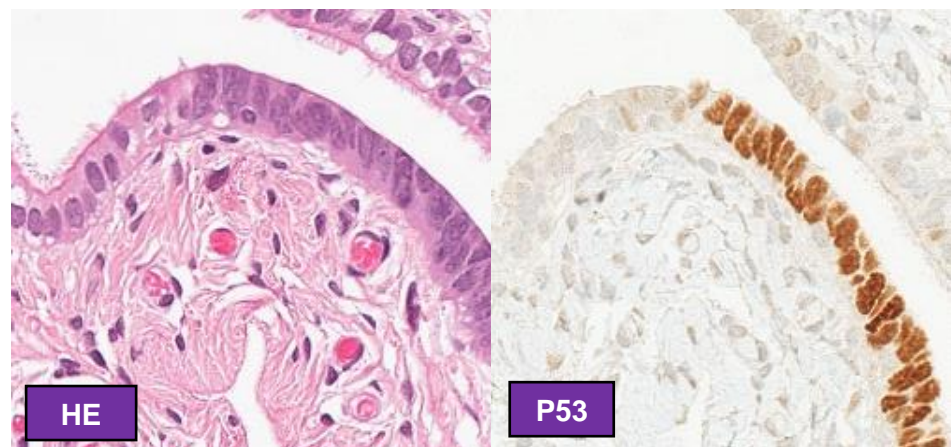
Alle histologischen Abschnitte wurden in Giga-Pixel-Auflösung, 24-Bit-Farbe und 40facher Vergrößerung mit Aperio ScanScope CS2 (Leica Biosystems, Buffalo Grove, IL) digitalisiert. Die Bildanalyse wurde unter Verwendung von ImageJ Software durchgeführt (National Institute of Health, Bethesda, MD). Im Folgenden werden Auffälligkeiten und pathologische Befunde exemplarisch anhand ausgewählter Fälle dargestellt.

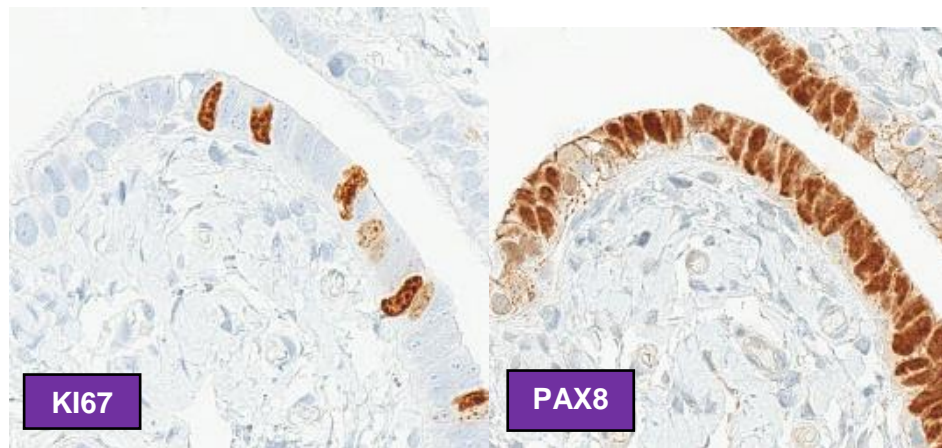
#### 3.5.1. SCOUT





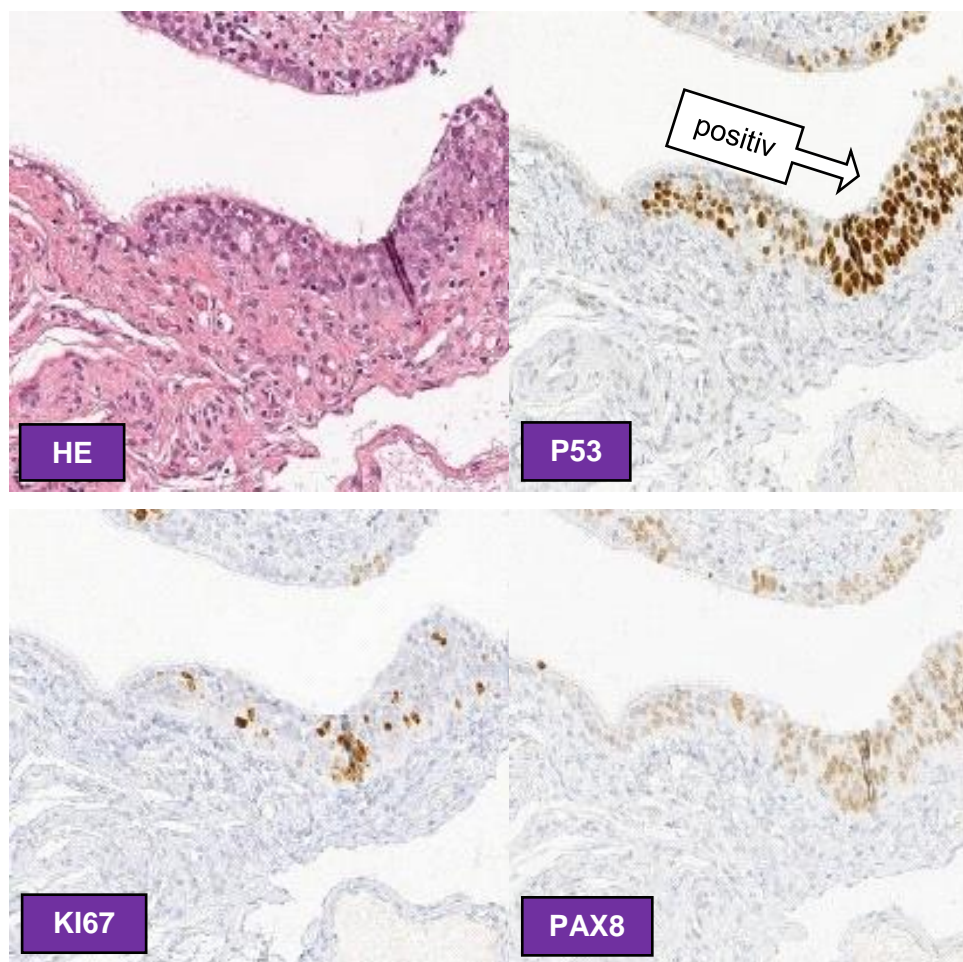
### 3.5.2. p53-Signatur





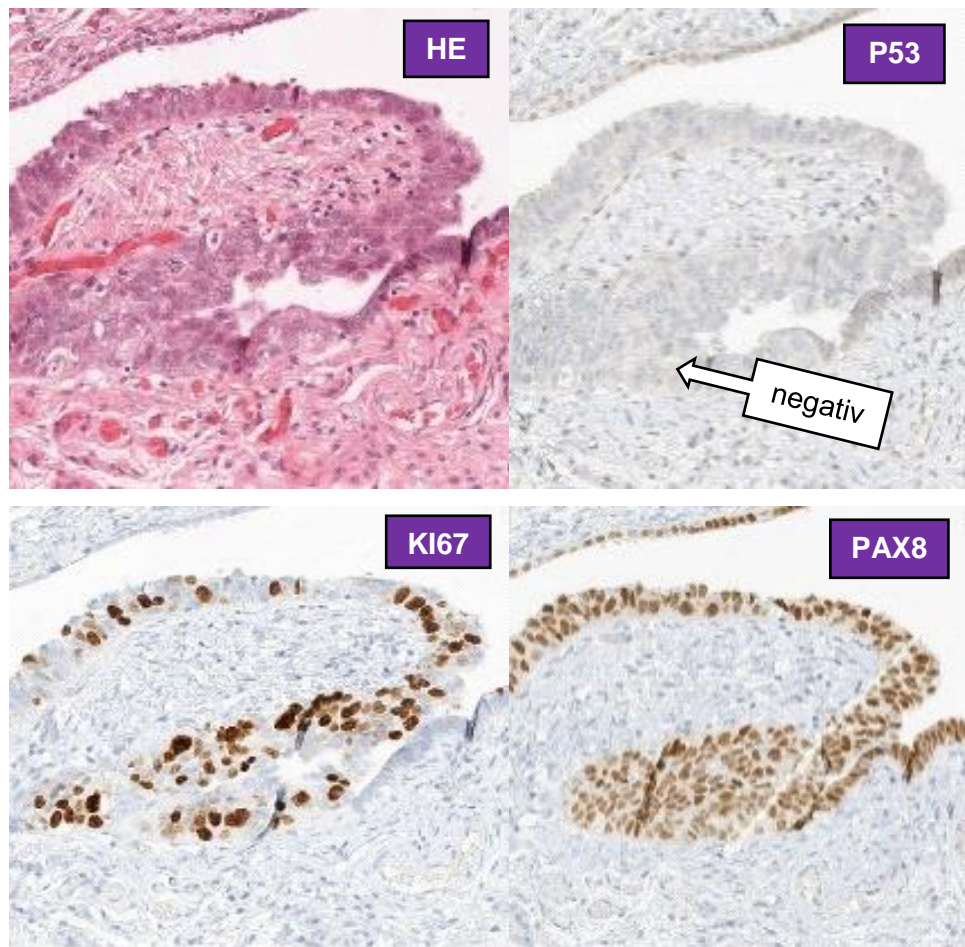
### 3.5.3. STIC

Beispiel A: (P53-positiv)

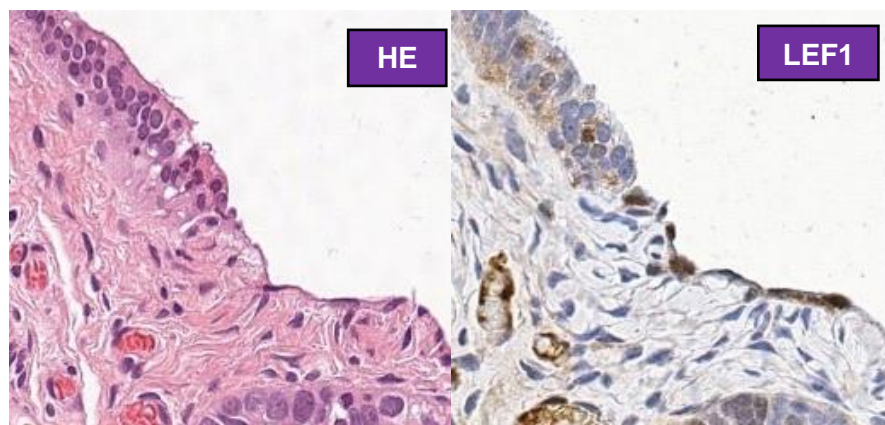


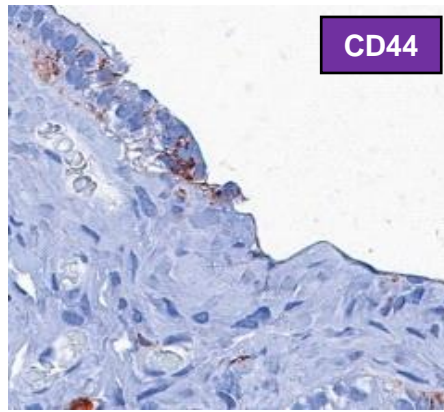


Beispiel B: (P53-negativ)



3.5.4. Serosaübergang





## 4. Diskussion

Die Überlebensrate bei einem diagnostizierten Ovarialkarzinom hat sich über die letzten 50 Jahre für die betroffenen Patientinnen nicht verbessert. Screening-Verfahren konnten keine Verbesserung der Prognose herstellen (Nik, Vang, Shih le, & Kurman, 2014). Mit dem Tubenepithel als Ausgangspunkt ovarieller Kanzerogenese hat die Forschung in jüngerer Vergangenheit einen gänzlich neuen Ansatz geschaffen. Die Revision bisheriger Missverständnisse der Tumorentstehung bietet das Potenzial, eine Etablierung funktionierender Screening-Verfahren und eine lang ersehnte Verbesserung der klinischen Situation nach sich zu ziehen. Aufgabe dieser Arbeit stellt die Überprüfung dieser neuen Theorie dar. Die Untersuchungsergebnisse werden im Hinblick darauf diskutiert.

### 4.1. Der tubare Ursprung des high grade serösen Ovarialkarzinoms

#### 4.1.1. Das seröse intraepitheliale Tubenkarzinom

##### 4.1.1.1. *Vorläuferläsion eines high grade serösen Ovarialkarzinoms*

Das seröse intraepitheliale Karzinom der Tuba uterina (STIC) konnte in vier der 44 BRCA1/2-positiven Patientenfälle diagnostiziert werden. Im BRCA1/2-negativen Kontrollkollektiv wurde kein STIC beobachtet. Die signifikant erhöhte Inzidenz ( $p=0.03$ ) dieser tubaren Läsion bei vorhandenem Ovarialkarzinomrisiko untermauert die bisherige Vermutung, dass ein intraepitheliales Tubenkarzinom mit der Entstehung eines serösen high grade Ovarialkarzinom in Verbindung steht. Geht man von der Annahme aus, dass ein seröses intraepitheliales Tubenkarzinom einem serösen high grade Karzinom des Ovars vorausgeht, so müssen weitere Parameter diskutiert werden:

Für BRCA1-positive Patientinnen gilt ein bis zum 69. Lebensjahr kumulatives Risiko von 39 Prozent, ein Ovarialkarzinom zu entwickeln. Für BRCA2-Positive liegt das Risiko in einem höheren Alter bei bis zu 11 bis 22 Prozent (A. du Bois, 2013). Im gemischten Kollektiv von 28 BRCA1- und 16 BRCA2-positiven Frauen liegt das Durchschnittsalter bei 51 Jahren zum Zeitpunkt der prophylaktischen Adnexektomie. Das altersabhängige, maximale Risiko für eine Tumorerkrankung des Ovars ist bei der Mehrzahl der Frauen also nicht erreicht. Insgesamt weisen hier nur 9,09 Prozent ein intraepitheliales Tubenkarzinom auf, was bei dem deutlich unter dem Risikomaximum liegende Durchschnittsalter des Kollektivs zu erwarten ist. Das niedrigere Ovarialkarzinomrisiko der BRCA2-Mutation im Vergleich zur BRCA1-Mutationsvariante lässt sich

anhand der STIC-Inzidenz nicht belegen. Jeweils zwei intraepitheliale Tubenkarzinome sind je einer Variante zuzuschreiben. Eine größere Anzahl dieser tubaren Vorläuferläsionen wäre im Teil der BRCA1-positiven Frauen wahrscheinlicher. Aufgrund der niedrigen Fallzahl ist diese Beobachtung jedoch nicht aussagekräftig.

#### *4.1.1.2. Verwandtschaft zur anderen tubaren Epithelveränderungen*

Das seröse intraepitheliale Tubenkarzinom wird als Ausgangspunkt für die Entstehung eines high grade serösen Ovarialkarzinoms und als Endpunkt in der Entwicklung verschiedener Veränderungen des Tubenepithels gehandelt. Somit ist mit einer höheren Anzahl epithelialer Vorläuferläsionen wie Secretory Cell Outgrowth und p53-Signaturen in Kombination mit einem serösen intraepithelialen Tubenkarzinom zu rechnen. Tatsächlich ist im Kollektiv der BRCA1/2-Mutationsträgerinnen bei jeweils beiden STIC-Fällen eine p53-Signatur ipsilateral zu beobachten. Unter den Tumorfällen mit STIC weist ein Fall eine Überwucherung sekretorischer Zellen auf. Da die p53-Signatur in insgesamt 6 von 39 tumorfreen Fällen mit erhöhtem Ovarialkarzinomrisiko diagnostiziert wurde, das STIC in lediglich zwei von 39 Fällen, stets aber in Kombination mit einer p53-Signatur und in keinem Fall als alleinige Epithelveränderung, erscheint ein entwicklungsgeschichtlicher Zusammenhang wahrscheinlich. In diesem Fall ist das Auftreten p53-positiver seröser intraepithelialer Tubenkarzinome mit p53-Signaturen zu erwarten. Grund dafür ist die Weitergabe derselben Mutation des Tumorsuppressorgens von p53-Signatur auf das später entstehende seröse intraepitheliale Tubenkarzinom. Beide Läsionen zeigen dann ein positives Ergebnis in der P53-Färbung. Diese Übereinstimmung ist jedoch nicht immer zu beobachten: in einem Fall tritt ein p53-negativer STIC mit einer p53-Signatur auf. Hier spricht lediglich die Häufung der Befunde für den tubaren Ursprung des high grade serösen Ovarialkarzinoms. Eine direkte entwicklungsgeschichtliche Verwandtschaft zwischen p53-Signatur und p53-negativem STIC erscheint in diesem Fall zunächst nicht plausibel. Nur ein Verlust dieser p53-Mutation in der Weiterentwicklung von p53-Signatur zu p53-negativem serösem intraepithelialen Karzinom bietet einen Ansatz um beide Läsionen hypothetisch in einen Zusammenhang zu bringen. Die Annahme, dass das seröse intraepitheliale Tubenkarzinom seinen Ausgang in einer p53-Signatur oder einer Überwucherung sekretorischer Zellen nimmt, wird durch die vorliegenden Ergebnisse nicht bewiesen. Das gehäufte

Auftreten der Epithelveränderungen legt die Vermutung nahe, dass diese entwicklungsgeschichtliche Verwandtschaft auf einige Fälle zutrifft.

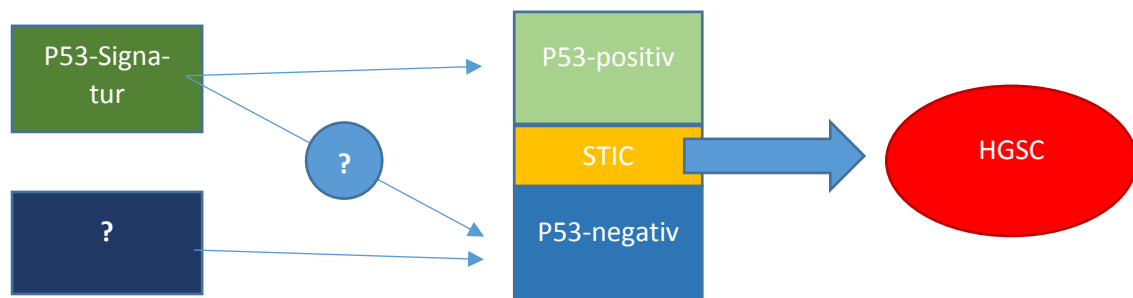


Abbildung 26: potenzielle entwicklungsgeschichtliche Zusammenhänge zwischen p53-Signatur, STIC und high grade serösem Ovarialkarzinom.

In der Vergangenheit wurde das Vorkommen von serösen intraepithelialen Tubenkarzinomen bei BRCA1/2-Mutationsträgerinnen bereits untersucht. In einer Veröffentlichung von Ilana Cass et al. aus dem Jahr 2014 wurden in neun von 78 Fällen ein STIC beobachtet, im Kontrollkollektiv der insgesamt 23 BRCA1/2-negativen Fälle war kein STIC vorhanden (Cass, Walts, Barbuto, Lester, & Karlan). Fabiola Medeiros et al. diagnostizierten in einer 2006 erschienen Publikation bei vier von 13 BRCA1/2-positiven Fällen ein seröses intraepitheliales Karzinom der Tuba uterina. Auch hier wurde diese Läsion des Tubenepithels in keinem der 13 BRCA1/2-negativen Kontrollen identifiziert (Medeiros et al., 2006). Folgende Tabelle stellt die unterschiedlichen Ergebnisse gegenüber:

STIC	vorliegende Arbeit	Cass et al. (2014)	Medeiros et al. (2006)
Kollektiv: BRCA1/2-positiv (oder hohes familiäres Risiko)	4/44 (9.09%) Durchschnittsalter 51 Jahre	9/78 (11.54%) Durchschnittsalter 48 Jahre	4/13 (30.77%) Durchschnittsalter 50 Jahre
Kontrollen: BRCA1/2-negativ	0/48 (0%)	0/23 (0%)	0/13 (0%)

Abbildung 27: Tabellarische Gegenüberstellung der vorliegenden Ergebnisse mit denen von Cass et al und Medeiros et al.

Bei Medeiros et al. wurden prozentual die meisten intraepithelialen Tubenkarzinome beobachtet (30.77%). Dies darf aufgrund der mit Abstand geringsten Fallzahl von 13 Patientinnen lediglich als Trend bewertet werden. Bei Cass et al. bietet die höchste Fallzahl von 78 Fällen eine statistisch sicherere Basis zur Bewertung der Ergebnisse.



Hier wurden in 11,54% der BRCA1/2-positiven Fälle ein STIC diagnostiziert. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit befinden sich mit 9,09% STIC-positiven Fälle in einem ähnlichen, deckungsgleichen Rahmen trotz geringerer Fallzahl (44 Fälle). Einem Vergleich aller drei Ergebnisse liegt keine Berücksichtigung der Mutationsvariante und dem damit verbundenen unterschiedlich hohen Ovarialkarzinomrisiko zugrunde. Das durchschnittliche Patientenalter der BRCA1/2-Mutationsträgerinnen zum Zeitpunkt der Adnexektomie liegt mit 51 (vorliegende Arbeit), 48 (Cass et al.) und 50 (Medeiros et al.) Jahren in einem vergleichbaren Bereich. Bemerkenswert sind die Ergebnisse der drei BRCA1/2-negativen Kontrollkollektive im Vergleich. Weder Cass et al. noch Medeiros et al. diagnostizierten ein seröses intraepitheliales Tubenkarzinom bei durchschnittlichem Ovarialkarzinomrisiko beziehungsweise fehlender BRCA1/2-Mutation. Bietet die Inzidenz des STIC im Kollektiv der BRCA1/2-Mutationsträgerinnen aufgrund nicht beachteter Parameter einen gewissen Interpretationsspielraum, so ist die absolute Übereinstimmung aller drei Arbeiten im Hinblick auf die Häufigkeit des STIC in BRCA1/2-negativen Kontrollkollektiv ein starkes Argument für die Vorläuferrolle des STIC in der ovariellen Karzinogenese.

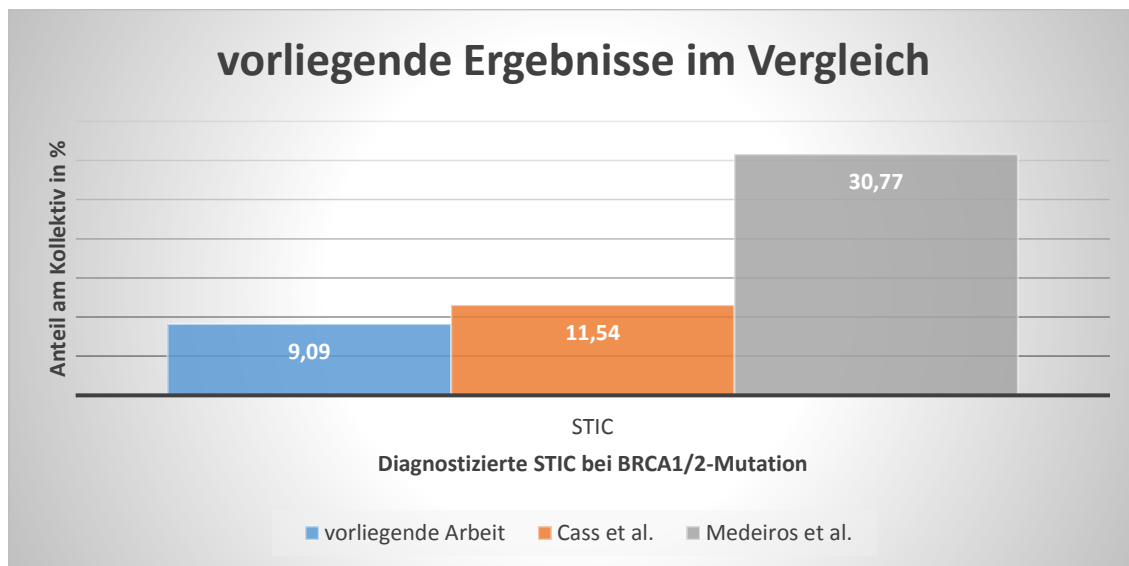


Abbildung 28: die Anzahl diagnostizierter STIC im Vergleich mit Cass et al. und Medeiros et al.

#### 4.1.2. Die p53-Signatur

##### 4.1.2.1. Eine indirekte Vorläuferläsion

Im Kollektiv der BRCA1/2-Mutationsträgerinnen wurde in 20,45%, im Kontrollkollektiv in 16,67% der Fälle eine p53-Signatur beobachtet. Die Inzidenz dieser tubaren Epithelveränderung ist bei den Mutationsträgerinnen gegenüber den Kontrollen nicht signifikant erhöht. Ihre Rolle als direkte Vorläuferläsion eines high grade serösen Ovarialkarzinoms ist deshalb unwahrscheinlich. Wie bereits oben beschrieben spricht das gehäufte Auftreten zusammen mit einem intraepithelialen Tubenkarzinom dafür, dass eine p53-Signatur in einigen Fällen einem solchen entwicklungsgeschichtlich vorausgeht. Aufgrund des höheren Ovarialkarzinom-Risikos und der damit verbundenen höheren Inzidenz intraepithelialer Tubenkarzinome ist dann auch eine höhere Anzahl diagnostizierter p53-Signaturen im Kollektiv der Mutationsträgerinnen zu erwarten. Dies trifft auf vorliegende Ergebnisse zu: die Inzidenz der p53-Signatur ist unter den BRCA1/2-Mutationsträgerinnen um 3,78% höher als im Kontrollkollektiv. Wenn auch nicht signifikant erhöht, so darf dieser Unterschied als Trend bewertet werden. Das Durchschnittsalter der Mutationsträgerinnen (51 Jahre) liegt deutlich unter dem der Kontrollen (56 Jahre). Deshalb ist bei einem geringeren Altersunterschied aufgrund des kumulativen Ovarialkarzinomrisikos ein noch häufigeres Vorkommen der p53-Signatur unter den Mutationsträgerinnen im Vergleich mit dem Kontrollkollektiv wahrscheinlich. Insgesamt acht von 35 Fälle ohne erhöhtem Ovarialkarzinomrisiko weisen eine p53-Signatur auf, jedoch kein Fall ein seröses intraepitheliales Tubenkarzinom. Ein Teil der p53-Signaturen ist demnach als altersbedingte Epithelveränderung ohne überdurchschnittliches, kanzerogenes Potenzial in der weiteren Entwicklung anzusehen.

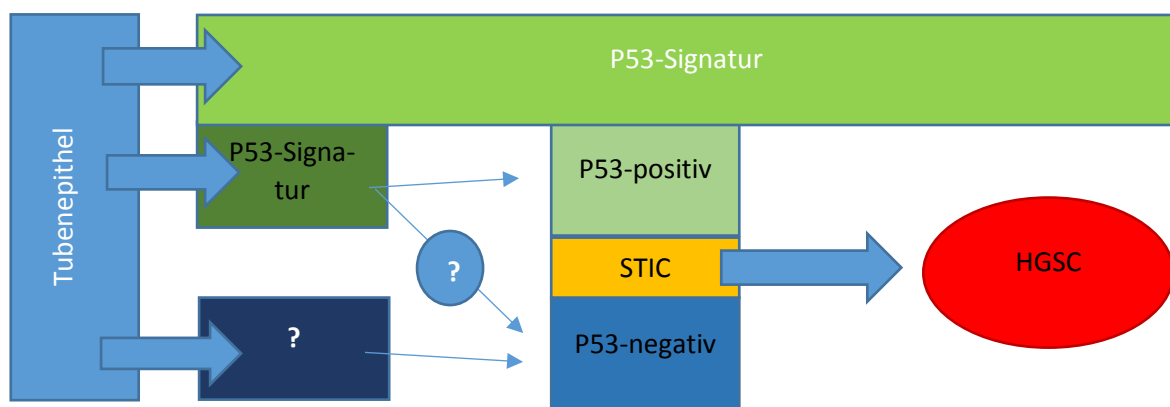


Abbildung 29: die Rolle der p53-Signatur in der Kanzerogenese des high grade serösen Ovarialkarzinoms.

#### 4.1.2.2. Läsion und Mutationsvariante

Betrachtet man die bei einer diagnostizierten Signatur vorliegende Mutationsvariante, so fällt auf, dass fünf der insgesamt sechs p53-Signaturen auf die BRCA1-Mutationsvariante fallen. Nur eine Signatur im Kollektiv der 39 BRCA1/2-positiven Patientinnen ist der BRCA2-Variante zuzuordnen. Diese Beobachtung korreliert mit dem niedrigeren Ovarialkarzinomrisiko der BRCA2-Mutation im Vergleich zur BRCA1-Variante und spricht für eine indirekte Vorläuferrolle der p53-Signatur in der ovariellen Kanzerogenese. Wenn auch kein signifikanter Beweis vorliegt, so kann dennoch der Trend festgestellt werden, dass bei einem höheren ovariellen Karzinomrisiko häufiger p53-Signaturen beobachtet werden können.

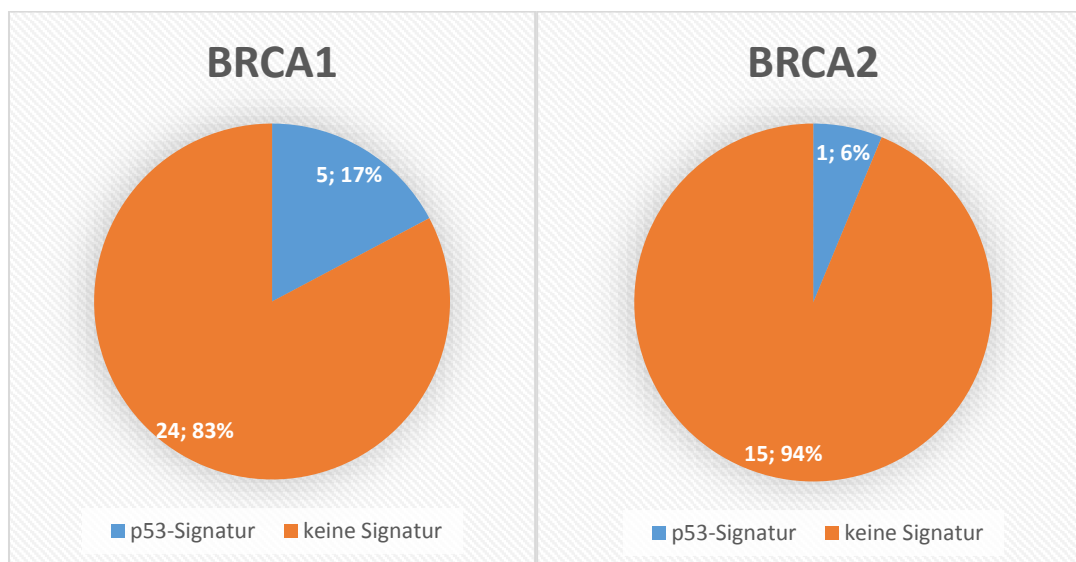


Abbildung 30: Anteil der p53-Signaturen am Kollektiv der Mutationsträgerinnen in Abhängigkeit von der BRCA-Variante.

Dieser Trend deckt sich mit den Ergebnissen früherer Untersuchungen. Asaturova et al. fand in einem Kollektiv von 136 Patientinnen mit epitheliale Ovarialkarzinom in 11,7% der Fälle eine p53-Signatur. Alle mit einer Signatur vergesellschafteten Karzinome waren vom serösen Typ (Asaturova, Ezhova, Faizullina, Sannikova, & Khabas, 2016). Circa 90% aller serösen Ovarialkarzinome sind dem high grade Typus zuzuordnen, der sich im Vergleich zu anderen Ovarialkarzinomtypen durch ein sehr aggressives Wachstum und einer schlechten Prognose auszeichnet (R. Kurman, 2008). Dass bei Asaturova et al. ausschließlich seröse und deshalb meist aggressive Tumore

des Ovars mit einer p53-Signatur zusammenfallen, unterstreicht eine mögliche Vorläuferrolle der p53-Signatur für seröse Ovarialkarzinome. Cass et al. untersuchte in ihrer Arbeit die übermäßige Expression von P53 („p53 overexpression“) in tubaren Epithelzellen bei BRCA1/2-Mutationsträgerinnen. Diese Epithelveränderung wurde definiert als lückenloser Verbund von mindestens sechs aufeinander folgenden tubaren Epithelzellen mit stark P53-positiv gefärbtem Zellkern. Diese Läsion wurde bei 30% der 78 Mutationsträgerinnen und sogar 43% der 23 Kontrollen beobachtet. Cass et al. kommt deshalb zu dem Schluss, dass der Nachweis überdurchschnittlich vieler p53-positiver Zellen allein als Beweis einer Vorläuferrolle in der Kanzerogenese seröser Ovarialkarzinome nicht ausreicht (Cass, Walts, Barbuto, Lester, & Karlan). Anders verhält es sich mit den vorliegenden Beobachtungen zu p53-positiven Zellen: der prozentuale Anteil der p53-Signaturen im Kollektiv der BRCA1/2-Mutationsträgerinnen liegt um 3,78% höher als im Kontrollkollektiv. Dieser Unterschied besitzt keine Signifikanz, unterscheidet sich aber deutlich von den Ergebnissen von Cass et al. Dies lässt sich auf die Untersuchungskriterien von Cass et al. zurückführen, die eine p53 Überexpression mit einem Zellverbund von sechs Zellen festlegt. Eine p53-Signatur hingegen muss mindestens zwölf p53-positive Epithelzellen ohne Unterbrechung besitzen. Die Arbeit von Cass et al. zeigt, dass eine übermäßige Expression von P53 in tubaren Epithelzellen als physiologisch betrachtet werden kann und kein erhöhtes Entartungsrisiko birgt. Dehnt sich dieser p53-positive Zellverband auf die Länge einer p53-Signatur aus, wird er häufiger bei Patientinnen mit erhöhtem Ovarialkarzinomrisiko beobachtet und kann mit anderen tubaren Läsionen (STIC) in Verbindung gebracht werden. Die Definition eines noch längeren Abschnitts p53-positiver Zellen und seine Untersuchung an BRCA1/2-positiven Patientinnen können in Zukunft weitere Erkenntnisse in Bezug auf die Länge einer p53-positiven Zell-Strecke und ihres kanzerogenen Potenzials bringen. Der Vergleich der Ergebnisse von Cass et al. mit den vorliegenden Beobachtungen legt die Hypothese nahe, dass eine Verlängerung der p53-positiven Zellstrecke stattfindet und sich dabei das pathogene Potenzial erhöht.

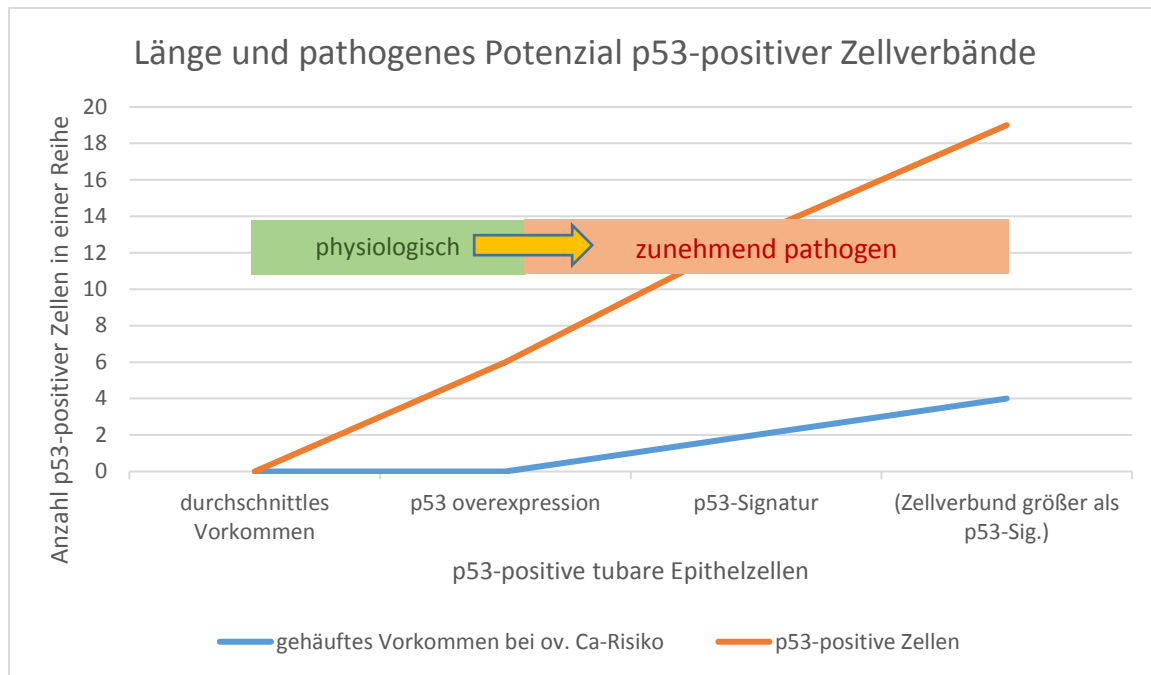


Abbildung 31: Anzahl der p53-positiven Epithelzellen, ihr Vorkommen in einer Risikogruppe und pathogenes Potenzial.

Eine Publikation von Nishida et al. hat die Untersuchung von tubaren Vorläuferläsionen bei 123 Patientinnen ohne erhöhtes Ovarialkarzinomrisiko zum Inhalt. Zwölf der 123 Fälle (9,7%) zeigten eine p53-Signatur. Das Durchschnittsalter der Patientinnen lag bei 47,4 Jahren (Altersspanne von 16-81 Jahre) (Nishida, Murakami, & Higaki, 2016). In der vorliegenden Arbeit lag das Durchschnittsalter der 48 Patientinnen ohne erhöhtes Ovarialkarzinomrisiko bei 56 Jahren. In 16,67% der Fälle ist hier eine p53-Signatur nachweisbar.

Publikationen	Fallzahl	Durchschnittsalter	Zahl der p53-Signaturen
Nishida et al.	123	47,4 Jahre	12 (9,7%)
Vorliegende Arbeit	48	56 Jahre	8 (16,67%)

Abbildung 32: Tabellarische Aufstellung der Ergebnisse von Nishida et al. und der vorliegenden Arbeit in Bezug auf p53-Signaturen.

Das Lebenszeitrisiko eines Ovarialkarzinoms für alle Frauen beträgt 1,5%. Das mittlere Erkrankungsalter betrug im Jahr 2010 69 Jahre (S. Caspritz, 2009/2010). Im Kollektiv von Nishida et al. liegt das Durchschnittsalter der Patientinnen weit unter dem des durchschnittlichen Erkrankungsalter für ein Ovarialkarzinom. Gleichzeitig weisen bereits 9,7% der Fälle eine p53-Signatur auf. Eine direkte Vorläuferrolle der p53-Signatur in der ovariellen Kanzerogenese erscheint aufgrund der hohen Anzahl an p53-Signa-

turen bei jungem Patientenalter und nicht erhöhtem Ovarialkarzinomrisiko deshalb unlogisch. Geht man von einer indirekten Vorläuferrolle aus, so kann angenommen werden, dass sich nicht jede p53-Signatur weiterentwickelt und ein kanzerogenes Potenzial entfaltet. Das um 8,6 Jahre ältere Patientengut des aktuellen Kontrollkollektivs weist im Vergleich zum Kollektiv von Nishida et al. eine höhere Anzahl an p53-Signaturen auf. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass die Anzahl der p53-Signaturen mit dem Alter steigt und nur ein geringer Teil dieser Läsionen als indirekte Vorläuferläsionen in Frage kommen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass das Lebenszeitrisko für eine Tumorerkrankung des Ovars von 1,5% für Frauen mit und ohne genetische Prädisposition gilt. Nishida et al. konnte eine genetische Belastung seiner 123 Patientinnen ausschließen. Das Ovarialkarzinomrisiko dieses Kollektivs ist somit unter 1,5%. Im Gegensatz dazu kann im aktuellen Kontrollkollektiv eine genetische Prädisposition nicht zu 100% ausgeschlossen werden. Es liegt in diesen 48 Fällen keine Indikation für ein genetisches Screening vor oder eine Häufung familiärer Befunde war zum Zeitpunkt der Adnexektomie nicht bekannt.

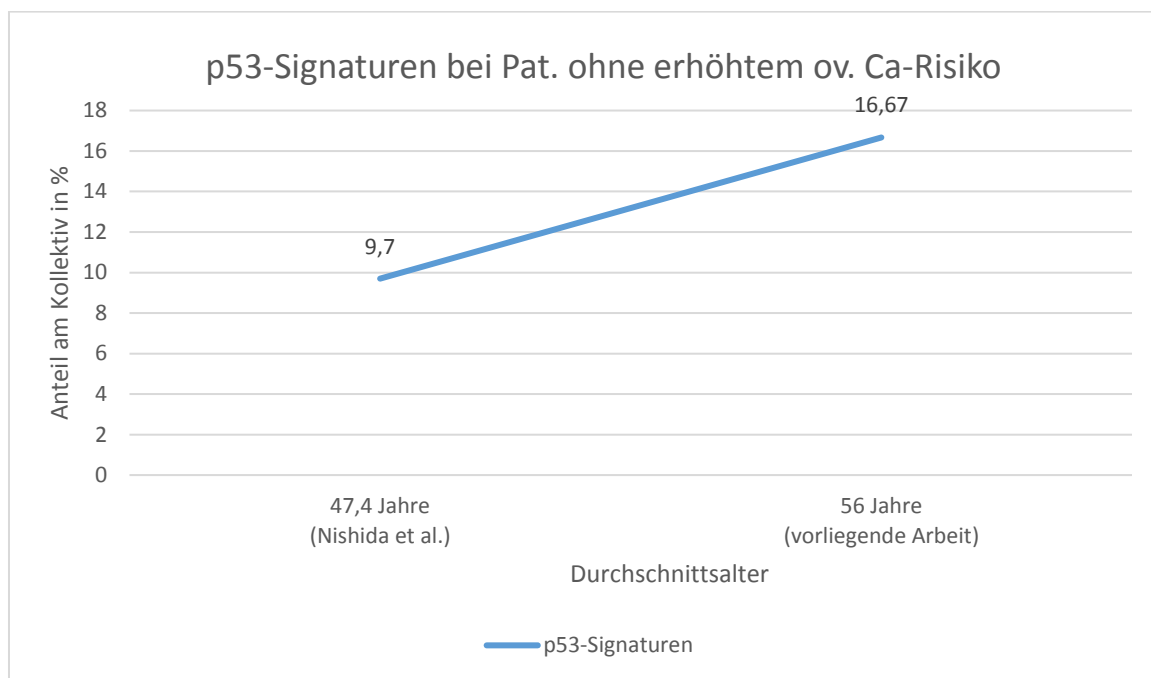


Abbildung 33: Inzidenz der p53-Signatur in Abhängigkeit von Patientenalter und ohne erhöhtem Ovarialkarzinomrisiko.

#### 4.1.3. Secretory Cell Outgrowth

##### 4.1.3.1. Eine zweifelhafte Rolle in der ovariellen Kanzerogenese

Die Überwucherung sekretorischer Zellen (SCOUT) tritt bei BRCA1/2-Mutationsträgerinnen nicht signifikant häufiger auf als bei Patientinnen ohne erhöhtem Ovarialkarzinomrisiko. Bei Vorliegen einer Mutation ist diese Epithelveränderung in 11,36% der Fälle zu beobachten. Im Kontrollkollektiv weisen 10,42% einen SCOUT auf. Die Inzidenz dieser Läsion kann bei einem Unterschied von weniger als einem Prozent (0,94%) als annähernd gleich hoch eingestuft werden. Eine direkte Vorläuferrolle kann deshalb ausgeschlossen werden. Die Häufung der Befunde (SCOUT plus STIC, Tumor) bei einigen Risikofällen legt den Verdacht nahe, dass der Verlust der typischen tubaren Epithelarchitektur der Entstehung einer direkten Vorläuferläsion (STIC) vorausgeht oder deren Entstehung begünstigt.

Behandlungsgrund	SCOUT	Weitere Befunde
Prophylaktische Adnexektomie	3	Keine
Tumorfälle	1	High grade Ovarialkarzinom
	1	High grade Tubenkarzinom und STIC

Abbildung 34: SCOUT in Kombination mit anderen Befunden bei BRCA1/2-Mutation.

Unter den fünf Fällen eines Secretory Cell Outgrowth häufen sich die Befunde lediglich bei den Tumorfällen. Wurde eine prophylaktische Adnexektomie durchgeführt tritt ein SCOUT nur als alleinige Epithelveränderung auf. Daher ist eine generelle Beteiligung des SCOUT an der Entwicklung eines high grade serösen Ovarialkarzinom in Frage zu stellen. Zum einen spricht das im Vergleich zum ovariellen Tumorrisiko (1,5%) relativ häufige Vorkommen des SCOUT von 10,42% für ein geringes pathogenes Potenzial. Zum anderen liegt die Inzidenz dieser Veränderung bei Frauen mit hohem Ovarialkarzinomrisiko nur gering darüber. Es bestehen mehrere hypothetische Möglichkeiten im Zusammenhang mit der ovariellen Kanzerogenese:

- Eine Überwucherung sekretorischer Zellen könnte die Entstehung tubarer Vorläuferläsionen begünstigen und steht so mit der Genese eines serösen high

grade Tumors in Zusammenhang. Hierfür sprechen die beiden Tumorfälle, bei denen zusätzlich ein SCOUT diagnostiziert wurde. Da in den drei SCOUT-Fällen bei prophylaktischer Adnexektomie die Befunde nicht gehäuft auftreten und SCOUTs selbst bei hohem Ovarialkarzinomrisiko eine singuläre Erscheinung bleiben, könnten allerdings nur wenige Zellüberwucherungen den Nährboden für die Entwicklung einer tubaren Vorläuferläsion bilden.

- Ein Secretory Cell Outgrowth stünde in keinem Zusammenhang mit der ovariellen Kanzerogenese oder der Entstehung einer tubaren Vorläuferläsion wie STIC und p53-Signatur. Hierfür spricht in erster Linie, dass ein erhöhtes Ovarialkarzinomrisiko nicht mit einer größeren Anzahl an SCOUTs einhergeht, diese Epithelveränderung bei 10,42% der Frauen ohne erhöhtem Risiko auftritt und eine Häufung von tubaren Läsionen in Kombination mit einem SCOUT erst zu beobachten ist, wenn bereits ein high grade Tumor entstanden ist. Daher muss in Erwägung gezogen werden, dass die zwei SCOUTs unter den Tumorfällen in keinem entwicklungsgeschichtlichen Kontext der diagnostizierten Karzinome stehen. Es müssen weitere Adnexpräparate von Tumorpatientinnen untersucht werden, um einen Zusammenhang zwischen serösen high grade Karzinomen und Secretory Cell Outgrowth der Tuba uterina ausschließen zu können.

Eine Untersuchung von Li et al. aus dem Jahr 2013 behandelt das Auftreten von Secretory Cell Expansions (SCE) in unterschiedlichen Kollektiven. Diese Läsion wurde als Verbund von mindestens 10 aufeinander folgender sekretorischer tubarer Zellen definiert und umfasst somit auch das Secretory Cell Outgrowth (SCOUT) von mindestens 30 Zellen. Es wurden die Tubae uterinae von insgesamt 312 Patientinnen untersucht und in Gruppen eingeteilt: low-risk Fälle mit 194 Patientinnen (Kontrollkollektiv), 52 high-risk Fälle (BRCA1/2-Mutation nachgewiesen oder positive Familienanamnese bei Brust-/Ovarialkarzinom) und 56 Tumorfälle. Die Kollektive wurden nach Alter der Patientinnen gestaffelt. Li et al. beobachteten, dass die absolute Anzahl der sekretorischen Zellen im Tubenepithel mit dem Alter signifikant ansteigt. Secretory Cell Expansions wurden signifikant häufiger bei Patientinnen mit high grade serösem Karzinom und bei vorliegenden Risikofaktoren wie BRCA1/2-Mutation festgestellt. Li et al. postulieren deshalb, dass die Secretory Cell Expansion als morphologischer Biomarker zur frühzeitigen Detektion in der ovariellen Karzinogenese geeignet ist (Li et al., 2013).



Vorliegende Ergebnisse unterstützen diese Hypothese nicht. Zwar wurden hier keine Secretory Cell Expansions, sondern Secretory Cell Outgrowth untersucht, diese Epithelveränderung war allerdings auch bei Li et al. wesentlich öfter bei high risk – oder Tumorpatientinnen als im Kontrollkollektiv zu finden. Aktuelle Ergebnisse zeigen eine annähernd gleich hohe Inzidenz von SCOUT bei BRCA1/2-Mutation (11,36%) und bei fehlendem Ovarialkarzinomrisiko (10,42%). Lediglich die Häufung der Befunde der beiden Tumorfälle mit Secretory Cell Outgrowth passt zur von Li et al. aufgestellten Hypothese. Zur Einschätzung der Rolle des Secretory Cell Outgrowth in der ovariellen Karzinogenese müssen weitere Untersuchungen unternommen werden. Li et al. kommt mit einer wesentlich höheren Fallzahl und einer deshalb größeren statistischen Sicherheit zu einem Resultat, das sich durch vorliegende Ergebnisse nicht decken lässt. Darüber hinaus ist zu überprüfen, ob die Secretory Cell Expansion tatsächlich als Biomarker geeigneter ist als der hier verwendete Secretory Cell Outgrowth.

#### 4.2. Das dualistische Modell

Alle bisherigen Hypothesen zur Tumorgenese des high grade serösen Ovarialkarzinoms bieten einen Erklärungsansatz für die Anwesenheit von Müllerepithel am Ovar. Da die Tuba uterina entwicklungsgeschichtlich aus dem Müller-Gang entsteht, nicht aber das Ovar, rückt die Tuba uterina als Ursprung der Tumorgenese in den Fokus. Neueste Untersuchungen konzentrieren sich auf das seröse intraepitheliale Tubenkarzinom (STIC), das vor allem bei Fimbrien-naher Lokalisation in enger Beziehung zum Ovar steht und dessen Zellen dorthin absiedeln können. Ein zweiter Entstehungsmechanismus stellt der Übertritt tubarer Epithelzellen auf die Ovaroberfläche während der Ovulation dar. Bildet sich anschließend eine kortikale Inklusionszyste, kann dort die Tumorentstehung initiiert werden. Einen weiteren Ansatz bietet ein Trauma der ovariellen Oberfläche während der Ovulation, gefolgt von einer metaplastischen Umwandlung der Epithelzellen zu Müller-ähnlichen Epithel. Hier bildet das Ovar den Ausgangspunkt der Kanzerogenese, ein tubarer Ursprung wird nur vorgetäuscht.

	<b>Ursprung</b>	<b>Mechanismus</b>	<b>Vorläufer</b>	<b>Zeitpunkt</b>
<b>1.</b>	Tuba uterina	Absiedelung von Zellen	STIC	-
<b>2.</b>	Tuba uterina	Absiedelung von Zellen, Bildung einer kortikalen Inklusionszyste am Ovar	-	Ovulation
<b>3.</b>	Ovar	Epithel. Trauma und metaplastische Umwandlung	-	Ovulation

Abbildung 35: die drei potenziellen Mechanismen der Kanzerogenese eines high grade serösen Ovarialkarzinoms.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstützen erstgenannte These. Der Vergleich eines Hochrisiko-Kollektivs (BRCA1/2-positiv) mit einer Gruppe mit durchschnittlichem Ovarialkarzinomrisiko bietet die Möglichkeit etwaige Vorläuferläsionen des Tubenepithels zu detektieren und in Bezug auf oben genannte Hypothesen hin zu untersuchen. Das seröse intraepitheliale Tubenkarzinom (STIC) tritt bei den Hochrisikopatientinnen als einzige Epithelveränderung signifikant häufiger auf als bei den Kontrollen. Es kann sowohl bei tumorfreien Adnexen nach prophylaktischem Eingriff aufgrund eines erhöhten Ovarialkarzinomrisikos als auch bei bereits bestehendem high grade Ovarial- oder Tubenkarzinom beobachtet werden. Im Kontrollkollektiv tritt das seröse intraepitheliale Tubenkarzinom (STIC) in keinem Fall auf. Die Inzidenz dieser Läsion korreliert mit dem ovariellen Karzinomrisiko. Es darf daher angenommen werden, dass das Auftreten eines serösen intraepithelialen Tubenkarzinoms umso häufiger ist, je höher das ovarielle Karzinomrisiko der Patientin. Eine Vorläuferrolle für das high grade seröse Ovarialkarzinom ist deshalb wahrscheinlich und unterstützt die oben zuerst genannte Hypothese. Gleichwohl existieren Tumorfälle und Fälle eines erhöhten Karzinomrisikos ohne diagnostiziertem serösen intraepithelialen Tubenkarzinoms. Diese epitheliale Läsion scheint deshalb nicht in 100 Prozent der Fälle der seit langem gesuchte Ursprung der Tumorentstehung zu sein. Andere Hypothesen gewinnen hier wieder an Relevanz. Die dieser Arbeit zugrundeliegenden Ergebnisse bekräftigen zwar den tubaren Ausgangspunkt der Genese des serösen high grade Ovarialkarzinoms in Form eines intraepithelialen Tubenkarzinoms, andere Thesen zu Tumorentstehung können aber nicht entkräftet werden. Somit bleibt der Erklärungsansatz pluralistisch.

Die PAX-2-Analyse der epithelialen Läsionen kommt zu einem vergleichbaren Ergebnis. In der Vergangenheit wurde PAX-2 bereits als zukünftiger Marker der Wahl zur Detektion seröser Karzinome bei BRCA1/2-Mutationsträgerinnen gehandelt

(Chivukula et al., 2011). Die vorliegenden Ergebnisse vermitteln jedoch ein heterogenes Bild, das diese Euphorie dämpft: drei intraepitheliale Tubenkarzinome (STIC) waren gänzlich PAX-2-negativ, zwei waren nicht beurteilbar. Sucht man den Ursprung PAX-2-positiver Zellen der Ovaroberfläche in der Absiedelung von Zellen einer tubaren Vorläuferläsion, so wäre ein positives Färbeverhalten gerade dieser Epithelveränderung zu erwarten. Das Gegenteil ist bei drei von fünf serösen intraepithelialen Tubenkarzinomen (STIC) der Fall (0% PAX-2-positiv Zellen). Die geringe Fallzahl lässt unterschiedliche, allerdings nur hypothetische Überlegungen zu:

- die Inzidenz seröser intraepithelialer Tubenkarzinome (STIC) korreliert wie oben bereits diskutiert mit dem ovariellen Tumorrisiko (Vorkommen signifikant erhöht im BRCA1/2-positiven Kollektiv); diese tubare Epithelveränderung steht aber entgegen der neuen Hypothese in keinem entwicklungsgeschichtlichen Zusammenhang mit serösen high grade Ovarialkarzinomen. Beide Befunde können ein voneinander unabhängiges Verhalten in der PAX-2-Färbung aufweisen (z.B. Ovarialkarzinom PAX-2-positiv, STIC PAX-2-negativ).
- Für einen Teil der serösen intraepithelialen Tubenkarzinome (STIC) trifft ein entwicklungsgeschichtlicher Zusammenhang mit serösen high grade Karzinomen des Ovars zu. Aufgrund dessen besitzt ovarielles Tumorgewebe PAX-2-positiv Zellen, die wegen ihrer Absiedelung von tubaren Vorläuferläsionen auf den Müller Gang zurückgeführt werden können (Ozcan & Truong, 2012). In diesem Fall wären PAX-2-positiv Epithelveränderungen der Tuba uterina zu erwarten.

Betrachtet man sämtliche p53-Signaturen im Kollektiv der BRCA1/2-Mutationsträgerinnen und ihre PAX-2-Färbungen so findet man die ganze Bandbreite von 0% (5/11), bis 10% (1/11), bis 50% (1/11), mehr als 50% (1/11) und mehr als 80% (3/11) positiver Zellen. Dieses heterogene Bild der p53-Signatur spricht für einen pluralistischen Erklärungsansatz in Bezug auf diese tubare Läsion und ihre mögliche Rolle in der ovariellen Kanzerogenese. PAX-2-positiv (>80% der Zellen) Beispiele der p53-Signatur sprechen für, nur sehr schwach positiv (<10% der Zellen) oder PAX-2-negative Vertreter jedoch gegen einen entwicklungsgeschichtlichen Zusammenhang. Ist eine direkte Vorläuferrolle der p53-Signatur aufgrund der nicht signifikant erhöhten Inzidenz im Kollektiv der BRCA1/2-Mutationsträgerinnen eher anzuzweifeln, können wegen der vielfältigen Verhaltensmuster dieser Läsion in der PAX-2-Färbung keine weiteren

Rückschlüsse gezogen werden. Die vorliegenden Ergebnisse schließen die Möglichkeit eines entwicklungsgeschichtlichen Zusammenhangs nicht aus, jedoch ist dieser wohl nur für einen Teil der Fälle zutreffend. Ob die PAX-2-Färbung eine Aussagekraft bezüglich einer potenziellen indirekten Vorläuferrolle der p53-Signatur in der ovariellen Tumorgenese besitzt bedarf weiterer Untersuchungen.

Die drei beurteilbaren Überwucherungen sekretorischer Zellen (Scout) zeigen eine negative (0%) oder schwach positive (<10%) PAX-2-Färbung. Wurde aufgrund der annähernd gleich hohen Inzidenz der Zellüberwucherungen (Scout) im Risiko- wie im Kontrollkollektiv ein vermutlich physiologisches Vorhandensein dieser Epithelveränderung konstatiert, so kann aufgrund der vorliegenden PAX-2-Färbung keine Aussage getroffen werden, die dieser These widerspricht. Zu einer genaueren Evaluation dieser tubaren Epithelveränderung und der Bedeutung der PAX-2-Färbung muss eine höhere Fallzahl gewonnen und sowohl bei Risiko-, als auch bei Kontrollfälle untersucht werden.

Die Analyse der Fälle, bei denen sich Befunde häufen, führt zu einem uneinheitlichen Bild: Fall A, B und C zeigen unabhängig von der Art der Epithelveränderung ein gleichmäßiges Verhalten in der PAX-2-Färbung. Alle Läsionen sind entweder negativ oder nur schwach positiv (<10%). Mit Fall D kann jedoch bewiesen werden, dass zwei negative Läsionen (STIC und p53-Signatur) neben einer stark positiven Epithelveränderung existieren. Eine weitere Untersuchung speziell dieser benachbarter PAX-2-negativen und -positiven tubaren Veränderungen auf ihre Unterschiede hin könnte einen weiteren Hinweis darauf bringen, welche Läsionen kanzerogenes Potenzial entfalten können und welche nicht. Hier wird erneut die Notwendigkeit einer wesentlich diffizileren Differenzierung der unterschiedlichen Epithelläsionen und folglich deren Einordnung in verschiedene hypothetische Entstehungsmechanismen der ovariellen Karzinogenese deutlich. Fragestellungen für weiterführende Untersuchungen bleiben deshalb nicht aus:

- Gibt es spezifische Faktoren, die nur einen bestimmten Mechanismus der Tumorgenese initiieren?
- Spielt dabei der Unterschied der Mutationsvariante BRCA1/2 bei Risikopatientinnen eine Rolle?

- in wie weit unterscheiden sich high grade seröse Ovarialkarzinome mit unterschiedlichem Ursprung?
- Existieren klinische Unterschiede bei high grade serösen Ovarialkarzinomen mit unterschiedlichen Entstehungsmechanismen?
- ist eine weitere Differenzierung des high grade serösen Ovarialkarzinoms anhand seines Ursprungs (Ovar oder Tuba uterina) möglich?
- können tubare Epithelläsionen anhand ihres karzinogenen Potenzials unterschieden werden?

Junge Patientinnen mit erhöhtem Ovarialkarzinomrisiko in Form einer BRCA1/2-Mutation und abgeschlossener Familienplanung nehmen mit einer prophylaktischen Adnexektomie den Eintritt in die therapieinduzierte Postmenopause in Kauf. Es treten klimakterische Beschwerden auf und ein erhöhtes Risiko für östrogenabhängige Erkrankungen wird diskutiert. Es besteht die Möglichkeit einer postoperativen Hormontherapie (HT), um diesen Nebenwirkungen entgegen zu wirken. Die aktuelle S3-Leitlinie „Maligne Ovarialtumoren“ von 2016 trifft zu diesem Thema keine zuverlässige Aussage (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft & AWMF), 2016). Die klinische Konsequenz weiterführender Arbeiten zur ovariellen Kanzerogenese kann eine frühzeitige Detektion und prophylaktische Behandlung von Risikopatientinnen im Hinblick auf die unterschiedlichen Entstehungsmechanismen des Tumors darstellen. Patientinnen mit einem hohen Risiko für einen tubaren Ausgangspunkt könnte die Last einer postoperativen, hormonellen Belastung durch die prophylaktische Adnexektomie erspart bleiben, falls die chirurgische Entfernung der Tube allein das Risiko eines ovariellen high grade Tumors senken kann. Hierin liegt das Potential weiterer Arbeiten zur ovariellen Kanzerogenese. Diverse Voraussetzungen müssen dabei erfüllt sein: das BRCA1/2-positive Patientenkollektiv sowie alle weiteren Vergleichs- und Kontrollkollektive benötigen eine hohe Fallzahl für eine statistisch sichere Aussagekraft. Die Mutation muss in jedem Fall des BRCA1/2-Kollektivs nachgewiesen sein. Im Kontrollkollektiv ist eine BRCA-Mutation auszuschließen, zumindest aber eine positive Familienanamnese, die auf das mögliche Vorhandensein einer Mutation schließen lässt. Das Erstellen eines BRCA1/2-positiven Tumorkollektivs und dazugehörige klinische Daten wie Alter, Krankheits-, beziehungsweise Therapieverlauf und Überlebensrate können zur weiteren Differenzierung des high grade serösen Ovarialkarzinoms beitragen. Ebenso der Vergleich mit einem BRCA1/2-negativen Tumorkollektiv

samt klinischer Informationen. Beide Tumorkollektive sollten sich auf high grade seröse Ovarialkarzinome beschränken. Die Erstellung der Kollektive und die Erhebung klinischer Daten stellt dabei wegen der Seltenheit der Befunde eine Herausforderung dar, die nur durch enge Zusammenarbeit von Klinikern der gynäkologischen Onkologie und Pathologen zu bewerkstelligen ist. Tumorzentren bieten hierfür eine geeignete Schnittstelle.

## **5. Zusammenfassung**

Die Forschungsergebnisse im Bereich der gynäkologischen Onkologie der letzten Jahrzehnte konnten die klinische Situation und Prognose für Patientinnen mit der Diagnose eines Ovarialkarzinoms nicht verbessern. Die Sterblichkeit konnte nicht gesenkt, die 5-Jahres-Überlebensrate nicht verbessert werden. Der Fokus auf neue Mechanismen der ovariellen Kanzerogenese lässt hoffen: das in jüngerer Vergangenheit vorgestellte dualistische Modell bietet einen pluralistischen Erklärungsansatz und lenkt mit der Tuba uterina die Aufmerksamkeit auf einen potenziellen, bislang vernachlässigten, zellulären Ursprungsort der serösen high grade Ovarialkarzinome. Die detaillierte Differenzierung der Ovarialkarzinome anhand ihrer klinischen und pathogenetischen Eigenschaften führte zu einer Einteilung der epithelialen Tumoren in zwei Gruppen: die weniger aggressiven Typ1-Tumoren, die ca. 25 Prozent aller malignen Ovarialkarzinome ausmachen, und die aggressiveren Typ2-Tumoren, die häufig erst in einem fortgeschrittenen Stadium diagnostiziert werden. Das seröse high grade Ovarialkarzinom stellt mit 90 Prozent der serösen Ovarialkarzinome einen wichtigen Vertreter dieser Tumorerkrankung. Traditionell wurde das Ovariepithel als Ausgangspunkt der Tumorentstehung angesehen. Auslöser stellt dabei ein epitheliales Trauma während der Ovulation dar, das zunächst eine metaplastische Umwandlung zu Müllerepithel und zuletzt neoplastische Veränderungen zur Folge hat. Ein zweiter Erklärungsversuch geht bereits von der Absiedelung tubarer Epithelzellen auf die Ovaroberfläche zum Ovulationszeitpunkt aus. Ein anschließender Einschluss in eine kortikale Inklusionszyste begünstigt dysplastische Veränderungen und die Tumorgenese. Ein jüngerer, hypothetischer Entstehungsmechanismus des high grade serösen Ovarialkarzinoms stellt die Absiedelung von epithelialen Tumorzellen der Tuba uterina auf die Ova-

roberfläche dar. Die eigentliche Tumorgenese wird hier erstmals vom Ovar auf die benachbarte Tuba uterina verlegt. Aufgrund der anatomisch engen Lagebeziehung des distalen Endes der Tube zum Ovar verdient vor allem der Fimbrienkranz auf der Suche nach diesen Epithelveränderungen besondere Aufmerksamkeit. Bisher werden mehrere epitheliale Läsionen als mögliche Vorläuferläsionen eines high grade serösen Ovarialkarzinoms diskutiert: STIC (Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma), p53-Signatur, proliferierende p53-Signatur und SCOUT (Secretory Cell Outgrowth). Die vorliegende Arbeit hat das Ziel, die zuletzt genannte Hypothese zur Karzinogenese des high grade serösen Ovarialkarzinoms zu untersuchen. Ein Kollektiv aus insgesamt 44 Patientenfällen wurde erstellt, bei denen eine BRCA1/2-Mutation nachgewiesen und eine Adnexektomie durchgeführt worden war. In 39 Fällen wurde die Adnexe aus prophylaktischen, in 5 Tumorfällen aus therapeutischen Gründen entfernt. Das mit einer BRCA1/2-Mutation verbundene hohe Risiko eines Ovarialkarzinoms bietet die Möglichkeit an Adnexektomiepräparaten epitheliale Vorläuferläsionen der Tuba uterina zu detektieren. Grundlage dafür bietet die Annahme, dass bei einem überdurchschnittlich häufigen Auftreten von Ovarialkarzinomen auch deren Vorläuferläsionen in ähnlich vermehrtem Maße aufzufinden sind. Als Kontrollkollektiv dienen 48 Patientenfälle, bei denen eine Hysterektomie mit Adnexektomie vorgenommen und kein Ovarialkarzinom diagnostiziert wurde. Hier liegen keine Anzeichen für eine genetische Prädisposition für ein Ovarial- und Mammakarzinom vor. Die häufigsten Therapiegründe stellten dabei ein Zervixkarzinom, Endometriumkarzinom oder Leiomyom des Uterus dar. Von den eingebetteten Adnexektomiepräparaten wurden Leerschnitte angefertigt und im Anschluss folgende Färbungen durchgeführt: HE, P53, KI67, PAX-8, PAX-2, B Catenin, CD44, LEF1. Die gefärbten Schnitte wurden auf die Kriterien für STIC, p53-Signatur, proliferierende p53-Signatur und SCOUT hin untersucht und die Beobachtungen beider Kollektive statistisch ausgewertet. Das seröse intraepitheliale Tubenkarzinom (STIC) tritt bei BRCA1/2-Mutationsträgerinnen signifikant häufiger auf als im Kontrollkollektiv ( $p=0.03$ ). Dies spricht für eine Vorläuferrolle in der ovariellen Tumorgenese. Die Überwucherung sekretorischer Zellen (SCOUT) sowie die p53-Signatur sind bei den Hochrisikopatientinnen nicht signifikant häufiger anzutreffen als bei Patientinnen mit durchschnittlichem Ovarialkarzinomrisiko. Sie spielen deshalb nur eine untergeordnete Rolle in der Kanzerogenese. Nennenswert ist allerdings die Häufung der epithelialen Befunde unter den fünf BRCA1/2-positiven Tumorfällen. In nur einem

Fall konnte keine epitheliale Veränderung beobachtet werden. Bei beiden Tubenkarzinomen wurde ein seröses intraepitheliales Tubenkarzinom (einmal plus SCOUT) diagnostiziert und auch bei zwei Ovarialkarzinomen wurde je ein SCOUT (Secretory Cell Outgrowth) und eine p53-Signatur konstatiert. Unter den tumorfreien Adnexektomiepräparaten des BRCA1/2-positiven Kollektivs ist die mehrfach gepaarte Beobachtung von serösem intraepitheliales Tubenkarzinom und p53-Signatur auffällig. Beide STIC-Fälle werden von einer p53-Signatur begleitet, gleichwohl treten p53-Signaturen auch ohne weiteren Befund auf. Bemerkenswert stellt sich die Korrelation zwischen gehäufter Inzidenz der p53-Signatur und erhöhtem Ovarialkarzinomrisiko in Bezug auf die Mutationsvariante dar: die BRCA1-Variante ist mit einem höheren ovariellen Tumorrisiko vergesellschaftet (17% mit p53-Signatur). Unter den risikoärmeren BRCA2-positiven Fällen finden sich nur 6 Prozent mit diagnostizierter p53-Signatur. Diese Beobachtungen deuten auf eine mögliche indirekte Rolle der p53-Signatur in der ovariellen Kanzerogenese hin. Weiterführende Arbeiten zur ovariellen Kanzerogenese sollten an dieser Stelle der Rolle p53-positiver Epithelzellverbände nachgehen. In der Vergangenheit wurde PAX-2 als Marker für den Nachweis von Müllerepithel an der Ovaroberfläche verwendet (Ozcan & Truong, 2012) und bot einen entscheidenden Hinweis für eine mögliche Absiedelung tubarer Epithelzellen auf das Ovar. Das sehr heterogene Verhalten der potenziellen Vorläuferläsionen (STIC, Scout, p53-Signatur) in der PAX-2-Färbung lässt allerdings darauf schließen, dass nicht alle Läsionen für eine solche Abwanderung von Epithelzellen der Tuba uterina auf das benachbarte Ovar verantwortlich sein können.



## **Epithel der Tuba uterina als Ursprung ovarielle Kanzerogenese - Tubare epitheliale Läsionen als Vorläufer**

### **Pro**

- STIC-Inzidenz bei Hochrisikopatientinnen (BRCA+) signifikant erhöht ( $p=0.03$ ).
- STIC tritt in keinem Fall mit durchschnittlichem Ovarialkarzinomrisiko auf.
- Beide STIC-Fälle nach prophyl. Adnexektomie mit p53-Signatur.
- Zwei Tumorfälle (BRCA+) mit STIC, Tumorfälle mit weiteren Epithel. Befunden (p53-Signatur/SCOUT).
- P53-Signaturen häufiger bei BRCA1/2-positiven Fällen (Trend).
- P53-Signaturen häufiger unter BRCA1-Mutationsträgerinnen als unter BRCA2-Mutationsträgerinnen.

### **Contra**

- Inzidenz von p53-Signaturen nicht signifikant erhöht bei Risikopatientinnen.
- P53-negativer STIC in Kombination mit P53-Signatur.
- P53-Signaturen bei Fällen mit durchschnittlichem Ovarialkarzinomrisiko.
- Inzidenz von SCOUT nicht signifikant erhöht bei Risikopatientinnen.
- Drei beurteilbare STIC PAX-2-negativ.

Abbildung 36: durch die vorliegenden Ergebnisse gewonnene Aussagen für oder gegen das dualistische Modell.

## 6. Literaturverzeichnis

- Asaturova, A. V., Ezhova, L. S., Faizullina, N. M., Sannikova, M. V., & Khabas, G. N. (2016). [The morphological and immunohistochemical characteristics of changes in the fallopian tube mucosa in ovarian epithelial tumors]. *Arkh Patol*, 78(2), 3-9.
- B. Erickson, M. C., C. Landon. (2013). The role of the fallopian tube in the origin of ovarian cancer. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*.
- B. Prieshof, S. D. C. (2006). Genetische Beratung bei gynäkologischen Erkrankungen *Die Gynäkologie* (pp. 579-584): Springer Berlin Heidelberg.
- Brzovic, P. S., Rajagopal, P., Hoyt, D. W., King, M. C., & Klevit, R. E. (2001). Structure of a BRCA1-BARD1 heterodimeric RING-RING complex. *Nat Struct Biol*, 8(10), 833-837. doi: 10.1038/nsb1001-833
- S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom, Langversion 1.1, 2014 (2014).
- Cass, I., Walts, A. E., Barbuto, D., Lester, J., & Karlan, B. A cautious view of putative precursors of serous carcinomas in the fallopian tubes of BRCA mutation carriers. *Gynecologic Oncology*, 134(3), 492-497. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.07.084
- Chene, G., Tchirkov, A., Pierre-Eymard, E., Dauplat, J., Raoelfils, I., Cayre, A., . . . Penault-Llorca, F. (2013). Early telomere shortening and genomic instability in tubo-ovarian preneoplastic lesions. *Clin Cancer Res*, 19(11), 2873-2882. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-12-3947
- Chivukula, M., Niemeier, L. A., Edwards, R., Nikiforova, M., Mantha, G., McManus, K., & Carter, G. (2011). Carcinomas of Distal Fallopian Tube and Their Association with Tubal Intraepithelial Carcinoma: Do They Share a Common "Precursor" Lesion? Loss of Heterozygosity and Immunohistochemical Analysis Using PAX 2, WT-1, and P53 Markers. *ISRN Obstet Gynecol*, 2011, 858647. doi: 10.5402/2011/858647
- D. Rein, N. A., D. Niederacher (2006). Ovarialkarzinom. *Der Gynäkologe*, 39(6). doi: 10.1007/s00129-006-1838-x
- Du Bois, A., Rochon, J., Lamparter, C., & Pfisterer, J. (2005). Ovarialkarzinom—Versorgungsstruktur und-qualität in Deutschland 2001–2004. *Frauenarzt*, 46(7), 1-8.

- Kast, K., Gatzweiler, A., Krüger, S., Friedrich, K., Viehweg, P., Weidner, K., & Distler, W. (2006). Prophylaktische Operationen bei familiärem Risiko für Mamma- und Ovarialkarzinom. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 67(S 1), PO\_O\_02\_42. doi: 10.1055/s-2006-952540
- Kurman, R. (2013). Origin and molecular pathogenesis of ovarian high-grade serous carcinoma. *Annals of Oncology*, 10. doi: 10.1093/annoc/mdt463
- Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, D. K., & AWMF). (2013). S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge maligner Ovarialtumoren, Langversion 1.0, AWMF Registrierungsnummer: 032-035OL. In L. O. d. AWMF (Ed.), (Langversion 1.1 ed.): Leitlinienprogramm Onkologie der AWMF, Deutsche Krebsgesellschaft e.V., Deutsche Krebshilfe e.V.
- Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, D. K., & AWMF). (2016). S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge maligner Ovarialtumoren, Langversion 2.0 2016, AWMF-Registernummer: 032/035OL.
- Li, J., Ning, Y., Abushahin, N., Yuan, Z., Wang, Y., Wang, Y., . . . Zheng, W. (2013). Secretory cell expansion with aging: Risk for pelvic serous carcinogenesis. *Gynecologic Oncology*, 131(3), 555-560. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygyno.2013.09.018>
- Logan, C. Y., & Nusse, R. (2004). The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 20, 781-810. doi: 10.1146/annurev.cellbio.20.010403.113126
- Lüllmann-Rauch, R. (2003). *Histologie: Verstehen-Lernen-Nachschlagen*: Georg Thieme Verlag.
- M. Klar, E. S. (2009). Neoplastische Veränderungen der Eileiter und Eierstöcke *Klinik-manual Gynäkologie und Geburtshilfe* (pp. 157-164): Springer Berlin Heidelberg.
- Medeiros, F., Muto, M. G., Lee, Y., Elvin, J. A., Callahan, M. J., Feltmate, C., . . . Crum, C. P. (2006). The Tubal Fimbria Is a Preferred Site for Early Adenocarcinoma in Women With Familial Ovarian Cancer Syndrome. *The American Journal of Surgical Pathology*, 30(2), 230-236.
- Milatovich, A., Travis, A., Grosschedl, R., & Francke, U. (1991). Gene for lymphoid enhancer-binding factor 1 (LEF1) mapped to human chromosome 4 (q23-q25) and mouse chromosome 3 near Egf. *Genomics*, 11(4), 1040-1048.

- Mutter, G. L., & Prat, J. (2014). *Pathology of the Female Reproductive Tract*. Elsevier Health Sciences UK.
- N. Papadopoulos, A. L. (1997). Molecular basis of HNPCC: Mutations of MMR genes. *Human Mutation*, 10(2). doi: 10.1002/(SICI)1098-1004(1997)10:2<89::AID-HUMU1>3.0.CO;2-H
- Nik, N. N., Vang, R., Shih le, M., & Kurman, R. J. (2014). Origin and pathogenesis of pelvic (ovarian, tubal, and primary peritoneal) serous carcinoma. *Annu Rev Pathol*, 9, 27-45. doi: 10.1146/annurev-pathol-020712-163949
- Nishida, N., Murakami, F., & Higaki, K. (2016). Detection of serous precursor lesions in resected fallopian tubes from patients with benign diseases and a relatively low risk for ovarian cancer. *Pathol Int*, 66(6), 337-342. doi: 10.1111/pin.12419
- Ozcan, A., & Truong, L. D. (2012). PAX2 and PAX8 Expression in the Ovarian Surface Epithelium and Inclusion Cysts. *The American Journal of Surgical Pathology*, 36(7), 1100-1102. doi: 10.1097/PAS.0b013e3182500c4d
- Ponta, H., Sherman, L., & Herrlich, P. A. (2003). CD44: From adhesion molecules to signalling regulators. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 4(1), 33-45.
- R. Kurman, L. S. (2008). Pathogenesis of Ovarian Cancer. Lessons from Morphology and Molecular Biology and their Clinical Implications. *International Journal of Gynecologic Pathology*. doi: 10.1097/PGP.0b013e318161e4f5
- S. Caspritz, J. C. e. a. (2009/2010). Krebs in Deutschland. In G. d. e. K. i. D. e. V. Robert-Koch-Institut (Ed.), *Krebs in Deutschland* (Vol. 9). Berlin.
- Schlehe, B., & Schmutzler, R. (2008). [Hereditary breast cancer]. *Chirurg*, 79(11), 1047-1054. doi: 10.1007/s00104-008-1556-0
- Schneider, R., Schneider, C., Kloor, M., Fürst, A., & Möslein, G. (2012). Das Lynch-Syndrom. *coloproctology*, 34(5), 329-340. doi: 10.1007/s00053-012-0309-1
- Schulmann, K., & Stemmler, S. (2008). Hereditäres Kolonkarzinom. *Der Gastroenterologe*, 3(2), 112-118. doi: 10.1007/s11377-008-0175-0
- Seidman, J. D., Yemelyanova, A., Zaino, R. J., & Kurman, R. J. (2011). The fallopian tube-peritoneal junction: a potential site of carcinogenesis. *Int J Gynecol Pathol*, 30(1), 4-11. doi: 10.1097/PGP.0b013e3181f29d2a
- Staebler, A. (2011). Vorläuferläsionen der Ovarialkarzinome. *Der Pathologe*, 32(2), 265-270. doi: 10.1007/s00292-011-1488-1

- T. Longacre, M. W. (2014). *WHO Classification of Tumor of Female Reproductive Organs*. Paper presented at the World Health Organisation Classification of Tumors, Lyon.
- Uhl-Steidl, M., Müller-Holzner, E., Zeimet, A. G., Windbichler, G., Adolf, G. R., Daxenbichler, G., & Marth, C. (1994). Der prognostische Wert der CD44-Varianten Expression beim Ovarialkarzinom. *Gynäkologisch-geburtshilfliche Rundschau*, 34(suppl 1)(Suppl. 1), 152-153.
- Vochem, R., Eienkel, J., Horn, L. C., & Ruschpler, P. (2014). Bedeutung der Tumorstammzellhypothese für das Verständnis des Ovarialkarzinoms. *Der Pathologe*, 35(4), 361-370. doi: 10.1007/s00292-014-1910-6

## 7. Danksagung

Bei **Herrn Prof. Dr. med. Thomas Kirchner** bedanke ich mich für die Möglichkeit, diese Arbeit unter seiner Direktion am Pathologischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität durchzuführen.

Mein Dank gilt **Frau Prof. Dr. med. Doris Mayr** für die Aufnahme in Ihre Arbeitsgruppe und für die Betreuung dieser Dissertation als Doktormutter.

**Frau Dr. med. Elisa Schmoeckel** danke ich besonders für ihre stets geduldige und unermüdliche Unterstützung während jeder Phase dieser Arbeit. Herzlichen Dank für die intensive und freundliche Betreuung!

Für die statistische Auswertung der Ergebnisse bedanke ich mich herzlich bei Frau Dipl.-Geogr. Miriam Rottmann, MPH.

Bei den Medizinisch-Technischen Angestellten des Pathologischen Instituts bedanke ich mich für das immer zeitnahe Erstellen der Schnitte und Färbungen, insbesondere bei Fr. Anja Heier für die Informationen zu unterschiedlichen Färbetechniken.

Bei Frau Dr. med. Vera Link und Frau Dr. med. Yun-Chung Nam-Apostolopoulos bedanke ich mich für das gelegentliche Überlassen Ihres Arbeitsplatzes.

Mein Dank gilt darüber hinaus allen Mitarbeitern des Pathologischen Instituts, den Verwaltungsangestellten, den Mitgliedern der Haustechnik und dem Reinigungspersonal.

Last but not least bedanke ich mich bei meinen Eltern und meinem Lebensgefährten für ihre Unterstützung während des Studiums und der Durchführung dieser Doktorarbeit.

## **8. Lebenslauf und Publikation**

### **Lebenslauf**

#### **Persönliche Daten**

Name: Michael Schleißheimer  
Geburtsdatum: 18. Dezember 1989  
Geburtsort: Eichstätt  
Familienstand: ledig

#### **Schulische Ausbildung**

Grundschule: Am Graben, Eichstätt  
(1996 – 2000)  
Gymnasium: Gabrieli-Gymnasium, Eichstätt  
(2000 – 2009)  
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife  
(2009)

#### **Zivildienst**

Dienststelle: Medical Park St. Hubertus, Bad Wiessee  
(2009-2010)

#### **Studium**

Zahnmedizin: Ludwig-Maximilians-Universität, München  
(2009-2016)  
Abschluss: Staatsexamen im Fach Zahnmedizin  
(2016)

#### **Berufstätigkeit**

Tätigkeit: Vorbereitungsassistent  
Stelle: Zahnärztl. Gemeinschaftspraxis Deister/Bittelmeyer, München  
(seit 2016)

### **Veröffentlichung**

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden im Rahmen der 99. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e. V. und der 29. Tagung der Deutschen Gesellschaft für

Zytologie e. V. am 31. Mai 2015 der Arbeitsgruppe Gynäko- und Mammaphathologie  
vorgestellt:

E. Schmoeckel, M. Schleißeimer, M. Rottman, T. Kirchner, D. Mayr  
Pathologisches Institut, Ludwig-Maximilians-Universität, München,  
Deutschland und weitere

*„Tubare intraepitheliale Vorläuferläsionen des Ovarialkarzinoms sind  
nicht in allen serösen high grade Ovarialkarzinome und BRCA-  
positiven Adnexektomien nachzuweisen“*



## Eidesstattliche Versicherung

Schleißheimer, Michael

---

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,  
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

„Histomorphologische und immunhistochemische Untersuchungen  
an Adnexektomiepräparaten von BRCA1- oder BRCA2- Mutationsträgerinnen  
im Hinblick auf Läsionen des Tubenepithels und ihre Vorläuferrolle in der  
ovariellen Kanzerogenese“

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient  
und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen  
sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der  
Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder  
in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Gra-  
des eingereicht wurde.

München, 24.8.2017

---

Ort, Datum

---

Unterschrift Doktorandin/Doktorand